



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RAFAELA CRISTINA BARATA ALVES

**AVALIAÇÃO DA PESCADA-GÓ (*Macrodon anlyodon*) POR DIFERENTES
MÉTODOS DE QUALIDADE E CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO**

BELÉM - PARÁ
2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

RAFAELA CRISTINA BARATA ALVES

**AVALIAÇÃO DA PESCADA-GÓ (*Macrodon anylodon*) POR DIFERENTES
MÉTODOS DE QUALIDADE E CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lúcia de Fátima
Henriques Lourenço

BELÉM – PARÁ
2016

RAFAELA CRISTINA BARATA ALVES

**AVALIAÇÃO DA PESCADA-GÓ (*Macrodon anylodon*) POR DIFERENTES
MÉTODOS DE QUALIDADE E CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO**

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-graduação em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, Instituto de
Tecnologia, Universidade Federal do Pará,

Data de Avaliação: ____/____/____
Conceito: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Lúcia de Fátima Henriques Lourenço
(PPGCTA /ITEC/UFPA – Orientadora)

Prof^ª. Dr^ª. Maria Regina Sarkis Peixoto Joele
(PPGCTA / ITEC/UFPA – Membro)

Prof. Dr. Rosinelson da Silva Pena
(PPGCTA /ITEC/UFPA – Membro)

Prof. Dr. Hamilton Mendes de Figueredo
(FEA/ITEC/UFPA - Membro)

Prof. Dr. Alberdan Silva Santos
(PPGQ /ICEN/UFPA – Membro)

Aos MEUS FILHOS, Kauã e Lucas, e meus PAIS (Auxiliadora e Sidinei) e familiares por todo amor, cuidado e compreensão; dedico com amor.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, que na sua infinita bondade, me concebeu chegar até este momento.

Aos meus Filhos, Kauã Alves Ferreira e Lucas, que sempre demonstraram compreensão nos momentos que precisei me dedicar ao máximo para cumprir essa missão.

Aos meus Pais, Maria Auxiliadora Barata Alves e Sidinei Pereira Alves, que sempre estiverem ao meu lado apoiando, cuidando e dando suporte em cada momento. E por todos os familiares que de alguma forma fizeram se tornar possível essa caminhada.

À minha Orientadora, Dr^a Lúcia Lourenço, por todo o apoio, “disponibilidade” e vontade de auxiliar da sua melhor forma, sem isso nada teria continuado ou valido a pena.

Aos meus amigos e companheiros do LAPESCA por toda dedicação, troca de conhecimentos e apoio durante o desenvolvimento dessa pesquisa.

A todos os laboratórios e seus membros que tornaram possível a realização das análises.

A todos os amigos que conquistei nessa vida e de certa forma contribuíram para o bom andamento de mais essa etapa profissional.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) e a Universidade Federal do Pará (UFPA) por todo o suporte e infra-estrutura.

RESUMO

O frescor é perdido rapidamente em alguns peixes logo após o abate, devido às alterações que ocorrem através das reações enzimáticas e químicas, seguida da atividade da microbiota e, originando a produção de metabólitos responsáveis pela rejeição sensorial. A pescada-gó (*Macrodon ancylodon*) é um exemplo de peixe que apresenta essa perda acelerada da qualidade e, devido à importância comercial dessa espécie marinha e sua ampla distribuição geográfica e perspectiva econômica no país; a presente pesquisa estudou diferentes métodos de conservação para avaliar a qualidade e o frescor durante o armazenamento da pescada-gó em gelo e de filés sob atmosfera modificada. Inicialmente, a pescada-gó inteira conservada em gelo foi avaliada sensorialmente durante o desenvolvimento do Método de Índice de Qualidade (MIQ); seguida de identificação e estudo da microflora intestinal e, finalizando com a avaliação do frescor dos filés submetidos à atmosfera modificada (EAM), mantidos a 2°C, através do desenvolvimento e aplicação do protocolo MIQ para os filés. Em paralelo, foi avaliado também os teores de pH, bases voláteis totais (N-BVT), aminas biogênicas, ácidos graxos, substâncias orgânicas voláteis, contagens de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e psicotróficas na pescada-gó inteira conservada em gelo. O protocolo MIQ para a pescada-gó inteira conservada em gelo demonstrou alta correlação ($R^2=0,9868$) entre o Índice de Qualidade (IQ) e o tempo de armazenamento. Dentre os marcadores de qualidade avaliados, as aminas cadaverina e putrescina apresentaram teores elevados até o 14º dia. As substâncias voláteis tolueno e xileno mostraram contaminação das amostras oriundas do habitat e a dieta da pescada-gó e, a diminuição dos teores de ácido oléico e araquidônico confirmou a perda da qualidade e valor nutricional durante a estocagem. Os resultados microbiológicos indicaram aumento de bactérias psicotróficas, sugerindo que a pescada-gó inteira conservada em gelo tem estabilidade comercial por 11 dias. No estudo da microbiota intestinal, foi identificado cinco cepas de bactérias que exercem papel importante na segurança e/ou vida de prateleira da pescada-gó: *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens* e *Corynebacterium* sp. E apenas as duas primeiras, consideradas deterioradoras, tiveram crescimento significativo após três dias de armazenamento a 3°C. O estudo dos filés de pescada-gó embalados em atmosfera modificada (EAM) a 2°C, demonstrou que o efeito nesse tipo de conservação manteve o frescor por 6 dias em filés embalados com 60%CO₂/40%N₂ e 10 dias com 70%CO₂/30%N₂. A estabilidade comercial dos filés teve influência pela dissolução do CO₂ e o efeito bacteriostático na fase aquosa do músculo dos filés, que retardou o crescimento dos micro-organismos e corroborou no aumento do pH, N-BVT, putrescina e cadaverina. O desenvolvimento e aplicação do protocolo MIQ para os filés em EAM evidenciou alterações sensoriais na cor, odor e aspecto do muco. As análises instrumentais (cor e textura) adotadas durante a estocagem não resultaram como bons parâmetros nesse estudo de qualidade da pescada-gó. E por fim, dentre todos os parâmetros avaliados para a espécie *Macrodon ancylodon* os método sensorial e microbiológico foram os que apresentaram correlação significativa na avaliação da qualidade para a espécie inteira e em filé.

Palavras-chaves: qualidade, conservação, estabilidade comercial, microflora, atmosfera modificada.

ABSTRACT

Freshness is rapidly lost in some fish soon after slaughter, due to changes that occur through enzymatic and chemical reactions, followed by the activity of the microbiota and, leading to the production of metabolites responsible for sensorial rejection. King weakfish (*Macrodon ancylodon*) is an example of fish that presents this accelerated loss of quality and, due to the commercial importance of this marine species and its wide geographic distribution and economic perspective in the country; the present research studied different conservation methods to evaluate the quality and freshness during storage of king weakfish in ice and fillets under modified atmosphere. Initially, the whole ice-preserved king weakfish was evaluated sensorially during the development of the Quality Index Method (QIM); followed by the identification and study of the intestinal microflora, and finalizing with the evaluation of the freshness of the fillets submitted to the modified atmosphere, maintained at 2 ° C, through the development and application of the QIM protocol for fillets. At the same time, pH, total volatile bases (N-TBV), biogenic amines, fatty acids, volatile organic substances, counts of mesophilic and mesotrophic aerobic bacteria were detected in whole ice preserved king weakfish. The QIM protocol for whole ice preserved king weakfish showed a high correlation ($R^2 = 0.9868$) between the Quality Index (QI) and storage time. Among the quality markers evaluated, the amines cadaverine and putrescine presented high levels up to the 14th day. The volatile substances toluene and xylene showed contamination of the samples from the habitat and the diet of king weakfish and the reduction of the levels of oleic and arachidonic acid confirmed the loss of quality and nutritional value during storage. The microbiological results indicated an increase of psychrotrophic bacteria, suggesting that the whole preserved icefish had commercial stability for 11 days. In the intestinal microbiota study, five bacterial strains were identified that play an important role in the safety and / or shelf life of king weakfish: *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens* and *Corynebacterium* sp. And only the first two, considered deteriorating, had significant growth after three days of storage at 3 ° C. The study of 2°C modified atmosphere king weakfish fillets showed that the effect in this type of conservation kept the freshness for 6 days in fillets packed with 60% CO₂ / 40% N₂ and 10 days with 70 % CO₂ / 30% N₂. The commercial stability of the fillets was influenced by the dissolution of CO₂ and the bacteriostatic effect in the fillet muscle water phase, which retarded the growth of microorganisms and corroborated the increase in pH, N-BVT, putrescine and cadaverine. The development and application of the QIM protocol for fillets in MA evidenced sensory changes in the color, odor and appearance of the mucus. The instrumental analyzes (color and texture) adopted during storage did not turn out to be good parameters in this quality fish king weakfish study. Finally, among all the parameters evaluated for *Macrodon ancylodon*, the sensory and microbiological methods were those that showed a significant correlation in the evaluation of quality for the whole species and fillet.

Key-words: conservation, quality, commercial stability, microflora, modified atmosphere.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Vias de formação das aminas biogênicas	27
Figura 2.1. Correlação linear entre dias de armazenamento e Índice de Qualidade para pescada-gó (<i>Macrodon acylodon</i>) inteira em gelo	44
Figura 2.2. Pontuações média dos deméritos dos atributos de qualidade: (A) aparência geral; (B) brânquias; (C) olhos; (D) área anal da pescada gó (<i>Macrodon ancylodon</i>) inteira armazenada em gelo	45
Figura 2.3. Regressão parcial dos mínimos quadrados dos parâmetros MIQ desenvolvido para pescada gó inteira armazenada em gelo	46
Figura 2.4. Correlações entre dias de armazenamento e as contagens de bactérias psicrotróficas e mesófilas em pescada gó (<i>Macrodon ancylodon</i>) inteira em gelo.....	48
Figura 2.5. Correlação entre as alterações químicas de N-BVT e TBARS para a pescada gó inteira durante armazenamento em gelo	52
Figura 3.1. Crescimento da microbiota intestinal da pescadinha-real a 7 °C por 56 horas.....	68
Figura 3.2. Crescimento da microbiota intestinal da pescadinha-real a 3 °C por 80 horas.....	68
Figura 4.1. (A) Composição gasosa das embalagens e (B) contagem de bactérias psicrotróficas nos filés de <i>M. ancylodon</i> em diferentes tipos de AM.....	77
Figura 4.2. Mudanças na composição gasosa do espaço livre das embalagens de atmosfera modificada dos produtos de filé de <i>M. ancylodon</i> armazenados a 2°C	78
Figura 4.3. Correlação linear entre dias de armazenamento em gelo e o Índice de Qualidade (IQ) para filés de <i>M. acylodon</i> em EAM.....	81
Figura 4.4. Correlações entre dias de armazenamento e contagens de bactérias mesófilas (A) e psicrotróficas (B) em filés de <i>M. ancylodon</i> nos produtos G2 (60%CO ₂ /40% N ₂), G3 (70% CO ₂ /30% N ₂) e na amostra controle com 100% atm	82
Figura 4.5. Perda por gotejamento (%) durante estocagem a 2°C dos produtos de filé de <i>M. ancylodon</i> embalados em atmosfera modificada (EAM)	86
Figura 4.6. Parâmetros de cor L*, a * e b* da pele (A) e lombo (B) dos filés de G2 e G3.....	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1. Referências de desenvolvimento de protocolos MIQ para pescados.....	23
Tabela 2.1. Protocolo MIQ desenvolvido para a pescada-gó estocada em gelo.....	43
Tabela 2.2. Resultados das análises físico-químicas da pescada-gó armazenada em gelo.....	49
Tabela 2.3. Perfil químico de marcadores de qualidade da pescada-gó em gelo	50
Tabela 3.1. Resultados de mesófilas, psicrotróficas e coliformes a 45 °C da pescadinha-real	63
Tabela 3.2. Identificação das bactérias isoladas da microbiota intestinal da pescadinha-real e sua frequência (%).....	64
Tabela 4.1. Tipos de atmosferas e composição para o teste preliminar	74
Tabela 4.2. Protocolo MIQ desenvolvido para o filé de <i>Macrodon ancylodon</i> embalado em atmosfera modificada (EAM), mantido sob refrigeração (2°C).....	80
Tabela 4.3. Resultados das análises físico-químicas dos produtos G2 e G3.....	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AM	Atmosfera Modificada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BVT	Bases Voláteis Totais
CBHAM	Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas
CBHAP	Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas
CO ₂	Dióxido de carbono
EAM	Embalagem em Atmosfera Modificada
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
IQ	Índice de Qualidade
MIQ	Método de Índice de Qualidade
QIM	<i>Quality Index Method</i>
UFC	Unidade Formadora de Colônia

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	14
OBJETIVOS	16
OBJETIVO GERAL.....	16
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
CAPÍTULO I: REVISÃO DA LITERATURA	17
1. A SITUAÇÃO DA PESCA NO BRASIL	17
1.1. ASPECTOS GERAIS DA PESCADA-GÓ.....	17
1.2. ASPECTOS DA QUALIDADE EM PEIXES	18
2. CONSERVAÇÃO POR ATMOSFERA MODIFICADA	19
3. MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DO FRESCOR EM PEIXES.....	20
3.1. AVALIAÇÃO SENSORIAL	21
3.2. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA.....	24
3.3. AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA	28
REFERÊNCIAS	30
CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO POR DIFERENTES MÉTODOS DE QUALIDADE E DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE ÍNDICE DE QUALIDADE (QIM) PARA A PESCADA-GÓ (<i>Macrodon ancylodon</i>) INTEIRA CONSERVADA EM GELO.....	36
RESUMO.....	36
1. INTRODUÇÃO	37
2. MATERIAL E MÉTODOS	38
2.1. OBTENÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS.....	38
2.2. DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ	39
2.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS	40
2.4. PERFIL QUÍMICO DE MARCADORES DE QUALIDADE	40
2.5. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	42
2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.1. MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ)	42
3.2. REGRESSÃO PARCIAL DOS MÍNIMOS QUADRADOS – PLS	46
3.3. ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	47
3.4. ANÁLISES FISÍCO-QUÍMICAS	49
4. CONCLUSÃO.....	53
REFERÊNCIAS	54
CAPÍTULO III: IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA PESCADINHA-REAL (<i>Macrodon ancylodon</i>)	58
RESUMO.....	58
1. INTRODUÇÃO	59
2. MATERIAL E MÉTODOS	60
2.1. AMOSTRAS	60
2.2. QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS.....	60
2.3. MICROBIOTA INTESTINAL	61
2.4. TEMPERATURA LIMITE PARA CRESCIMENTO DA MICROBIOTA INTESTINAL.....	62
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
3.1. CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA	62
3.2. IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL.....	63
3.3. TEMPERATURA LIMITE PARA O CRESCIMENTO DA MICROBIOTA ISOLADA.....	67
4. CONCLUSÃO.....	69
REFERÊNCIAS	70
CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE FILÉS DE <i>Macrodon Ancylo don</i> EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA.....	72
RESUMO.....	72
1. INTRODUÇÃO	73

2. MATERIAL E MÉTODOS	74
2.1. OBTENÇÃO DOS PRODUTOS	74
2.2. AVALIAÇÃO SENSORIAL	75
2.3. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	76
2.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	76
2.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA	77
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
3.1. SELEÇÃO DOS TIPOS DE ATMOSFERA	77
3.2. COMPOSIÇÃO GASOSA DOS PRODUTOS	78
3.3. AVALIAÇÃO SENSORIAL	79
3.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	82
3.5. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICAS	84
4. CONCLUSÃO	88
REFERÊNCIAS	89
CONSIDERAÇÕES FINAIS	92

INTRODUÇÃO GERAL

O consumo de pescado no Brasil reflete diferenças regionais relacionadas com o poder aquisitivo da população, quantidade e qualidade ofertada, conservação, preços e hábito alimentar. Aliado a isso, a crescente oferta de peixes, deve considerar as atuais exigências dos consumidores mais conscientes da importância de obter alimentos com qualidade, saudáveis e que mantenham as características sensoriais.

Avaliar o impacto das condições de conservação do pescado é indispensável para estabelecer critérios específicos de qualidade, estimar o grau de frescor e a estabilidade comercial de peixes e seus produtos (SANTOS, 2011). A avaliação sensorial é o método mais comumente utilizado para estabelecer parâmetros de qualidade. O Método de Índice de Qualidade (MIQ) é um sistema de classificação confiável, rápido, específico e reconhecido como referência em pesquisa sensorial do frescor de pescados (NIELSEN; GREEN, 2007). A eficácia do MIQ tem sido comprovada através de pesquisas com diferentes espécies de pescados, demonstrando a importância da utilização desse método por pesquisadores (em laboratórios, para fins de investigação), indústrias (para inspeção mais precisa e decisões claras sobre a qualidade dos peixes) e comercialização de pescados (GONÇALVES et al., 2015).

A correlação do MIQ com outros métodos que considera diferentes parâmetros de qualidade, como os físicos, químicos e microbiológicos, visa avaliar as alterações ocorridas após o abate e durante a vida de prateleira de pescados (HUSS, 1999).

As mudanças no grau e perda do frescor em peixes ocorrem devido às reações enzimáticas e a atividade da microbiota presente na pele, brânquias e intestino. Podem também ser favorecidas por características individuais de cada espécie e pelas condições de armazenamento (GRAM; HUSS, 1996; GRAM; DALGAARD, 2002).

Algumas espécies da família *Sciaenidae* são exemplos de peixes que passam por alterações rápidas de frescor que ocorrem logo após o abate (SANTOS et al., 2014). A pescada-gó ou pescadinha-real (*Macrodon ancylodon*), que pertence a essa família, é uma das espécies que se destacam no estado do Pará, por apresentar boa perspectiva econômica e importância na pesca extrativa marinha nacional e regional. As características particulares da espécie são importantes para estabelecer critérios que definam a qualidade e frescor da

pescada-gó. Assim como, os efeitos que produtos elaborados a partir desse peixe podem obter se associados ao uso de tecnologias de conservação, como atmosfera modificada e refrigeração. Isto é importante para avaliar a influência dessas tecnologias na manutenção dos parâmetros de qualidade e frescor de produtos, além de prolongar a estabilidade comercial dos mesmos (SANTOS; OLIVEIRA, 2012).

Embasado na importância comercial da pescada-gó (*Macrodon ancylodon*), nas exigências acerca de métodos que avaliam os parâmetros de qualidade e no uso de formas de conservação que minimizem a perecibilidade de produtos de peixe, o **primeiro Capítulo** foi elaborado com uma “Revisão da Literatura”, para subsidiar a validade científica desta tese.

O **segundo Capítulo** tem como título “Avaliação por diferentes métodos de qualidade e desenvolvimento do Método de Índice de Qualidade (QIM), para a pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira conservada em gelo”, e o objetivo foi avaliar e correlacionar as alterações da pescada gó conservada em gelo através de avaliação sensorial com o MIQ e análises físico-químicas, microbiológicas e determinação de perfis químicos de substâncias orgânicas voláteis e ácidos graxos.

A “Identificação da microbiota intestinal e a qualidade microbiológica da pescadinha-real (*Macrodon ancylodon*)” compõe o **terceiro capítulo**, que aborda a qualidade microbiológica das amostras, identificação da flora intestinal e o crescimento testado em diferentes temperaturas de estocagem.

Finalmente, visando abordar um dos temas desta pesquisa e associar o uso de tecnologias de conservação inovadoras, o **quarto capítulo** versa sobre a “Avaliação dos parâmetros de qualidade de filés de *Macrodon ancylodon* embalados em atmosfera modificada”. Produtos de filés embalados em atmosferas modificadas (EAM) foram utilizados para avaliar a estabilidade comercial do mesmo, através de protocolo sensorial MIQ desenvolvido para filés de *M. ancylodon* e outros métodos de qualidade.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Utilizar diferentes métodos indicadores de qualidade que permitam estudar a microbiota da pescada-gó, estabelecer o grau de frescor e prever a estabilidade comercial dessa espécie inteira conservada em gelo e de filés embalados sob atmosfera modificada e refrigerados.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter, estudar, levantar dados acerca de métodos que avaliem os parâmetros de qualidade e no uso de formas de conservação que minimizem a precibilidade de produtos de peixe
- Desenvolver protocolos sensoriais através do Método de Índice de Qualidade (MIQ) para a pescada gó inteira conservada em gelo e filés embalados em atmosferas modificadas e estocados a 2°C.
- Correlacionar métodos que avaliem a qualidade da pescada-gó através das alterações microbiológicas, físicas, químicas e determinação de marcadores de qualidade, como os ácidos graxos, as aminas biogênicas e as substâncias orgânicas voláteis;
- Caracterizar a microbiota intestinal da pescada-gó para identificar e analisar o crescimento dessa microflora em duas temperaturas de armazenamento;
- Elaborar produtos de filés de pescada-gó embalados sob atmosfera modificada e avaliar, por diferentes métodos, a qualidade através de análises sensoriais, físicas, químicas e microbiológicas e estimar a estabilidade comercial desses filés.

CAPÍTULO I

REVISÃO DA LITERATURA

1. A SITUAÇÃO DA PESCA NO BRASIL

De acordo com a análise estatística realizada pelo Ministério da Pesca e Aquicultura (MPA), a produção de pescado no Brasil atingiu 1.431.974,4 toneladas em 2011. A pesca extrativa marinha continuou sendo a principal fonte de produção do pescado nacional. A análise da produção nacional de pescado por Unidade da Federação, para o ano de 2011, demonstrou que o estado do Pará permaneceu como segundo maior polo produtor de pescados no Brasil, com 153.332,3 t, sendo a pesca extrativa marinha, a mais importante no estado, foi responsável por 57,07% da produção (BRASIL, 2013).

Onze espécies que representam a metade do total de peixes marinhos capturados no Brasil se destacaram em 2010, sendo: sardinha-verdadeira, corvina, pescada-amarela, bonito-listrado, tainha, sardinha, castanha, cação, pescadinha-real (ou pescada-gó), serra e bagre (BRASIL, 2012). Dentre esses peixes de importância nacional para a pesca marinha, a pescada-gó, cujo nome científico é *Macrodon ancylodon*, contribuiu com uma produção extrativista de 7.043,7 toneladas no ano de 2011 (BRASIL, 2013).

1.1. ASPECTOS GERAIS DA PESCADADA-GÓ

A espécie *Macrodon ancylodon* (BLOCH; SCHNEIDER, 1801) tem relativa importância no cenário nacional e regional, na costa Norte do Brasil, tanto pelo volume capturado quanto pelo consumo da população local (IKEDA, 2003). Esta espécie é de origem subtropical, da família Sciaenidae, que ocorre com ampla distribuição geográfica, desde as águas tropicais da Venezuela até as águas subtropicais da Argentina. Devido ampla distribuição, no Brasil, esse peixe tem diversas denominações, como: pescadinha-gó, pescada-gó e corvina de boca-mole, na região Norte; e pescadinha, pescada-foguete e pescadinha-real, na região Sul e Sudeste (IKEDA, 2003; SANTOS et al., 2003).

A pescada-gó é encontrada, geralmente, em ambientes demersais, águas costeiras, principalmente sobre fundos de areia, lama e sedimentos, em profundidades de até 60 metros,

sendo mais comum aos 25 metros. Os peixes jovens desta espécie são encontrados também em água estuarinas. O comprimento médio dessa espécie é 40 cm, chega a pesar menos que 1 kg e se alimenta de camarões, pequenos peixes e lulas. Esta espécie pode atingir até 5 anos de idade, com maturidade sexual atingida com um a dois anos (IKEDA, 2003). A frequência de desova ocorre mais de uma vez ao ano, entre dezembro e abril e de junho a outubro (SZPILMAN, 2000). Devido a essa frequência, há grande oferta favorecida pelo volume de captura durante grande parte do ano e a procura dessa espécie pelo consumidor é devido ao seu baixo valor comercial, além de ser apreciada pela população que tem a preferência por alimentos saudáveis.

1.2. ASPECTOS DA QUALIDADE EM PEIXES

Segundo a FAO (2007), o peixe é um alimento de excelente valor nutricional, com proteínas de alto valor biológico, rico em micronutrientes minerais e ácidos graxos essenciais. No entanto, estas características, que classificam o peixe como um alimento saudável, ao mesmo tempo, o tornam um dos alimentos mais suscetíveis à deterioração, devido a elevada atividade de água (a_w) e o pH próximo da neutralidade (FONTES et al., 2007).

A perda primária do frescor dos peixes é causada por alterações bioquímicas endógenas no músculo do peixe, que ocorrem durante e após o abate (SIMAT et al., 2012). Em seguida, os compostos da segunda fase são produtos da atividade microbiana que podem ser reduzidos dependendo do armazenamento na extensa cadeia produtiva, estendendo a vida útil e a qualidade dos pescados (GONÇALVES, 2011). Todas essas alterações também são fortemente influenciadas por fatores ligados à espécie, estado nutricional, método de captura, manipulação e conservação, desde a captura até o consumo final (GRAM; HUSS, 1996; MOL; TOSUN, 2011).

Para retardar os processos de deterioração dos pescados utilizam-se vários métodos, baseados majoritariamente na aplicação de baixas temperaturas. No entanto, a associação de outros processos de conservação, aliada à refrigeração, pode ser mais eficaz, como: a desidratação, a defumação, o calor, o ultrassom, o uso de conservantes, a fermentação, a irradiação e a atmosfera modificada (MANTILLA et al., 2010).

2. CONSERVAÇÃO POR ATMOSFERA MODIFICADA

Um exemplo de tecnologia de conservação inovadora é a embalagem com atmosfera modificada (AM), que se baseia na inclusão de produtos dentro de materiais com barreira a gases, onde o meio gasoso tenha sido modificado, para inibir os agentes de deterioração, além de manter a qualidade e aumentar a estabilidade comercial do produto (LEMPECK et al., 2001).

Existem duas maneiras de utilizar a EAM: 1) embalagem a vácuo e 2) embalagem com mistura gasosa (REDDY; ARMSTRONG, 1992). A primeira consiste em colocar o produto em um filme de baixa permeabilidade ao oxigênio, remover o ar da embalagem e selar. Para as embalagens gasosas com introdução de gás ou mudança de gases, as misturas gasosas consistem usualmente em dióxido de carbono (CO₂), oxigênio (O₂) e nitrogênio (N₂), em diferentes combinações e proporções, dependendo do teor de gordura e da microflora capaz de crescer no produto (REDDY; ARMSTRONG, 1992; SIVERTSVIK et al., 2002).

É importante ressaltar que, essas tecnologias de conservação inovadoras, para favorecerem de fato o aumento da vida útil de pescados, dependem de outros fatores, como: utilização de baixas temperaturas durante o armazenamento, matérias-primas de qualidade elevada, correta manipulação, material de embalagem adequado, mistura e acompanhamento da disponibilidade dos gases dentro das embalagens (SIVERTSVIK et al., 2002; GONÇALVES et al., 2009).

O dióxido de carbono é o gás mais importante utilizado na embalagem com atmosfera modificada, devido ao seu efeito bacteriostático sobre os micro-organismos presentes na fase aquosa dos alimentos (OZOGUL et al., 2004). Os mecanismos desse efeito são pouco compreendidos, mas, geralmente, alteram a função da membrana celular (incluindo a absorção de nutrientes) e diminuem as taxas de reações enzimáticas através de alterações do pH intracelular (SIVERTSVIK et al., 2002). No entanto, para a obtenção de um efeito bacteriostático máximo a temperatura deve ser mantida próxima de 0°C, uma vez que a solubilidade do CO₂ aumenta inversamente com a temperatura (DEVLIEGHIERE; DEBEVERE, 2000; GONÇALVES et al., 2009).

A capacidade de absorção de CO₂ pelos alimentos é dependente da relação de volume de gás contido na embalagem (razão gás:produto), pressão parcial e concentração de CO₂ a que o alimento está sujeito, tipo e fase de crescimento dos micro-organismos presentes

inicialmente, características bioquímicas do produto e relação entre os teores de água e de gordura (SIVERTSVIK et al., 2002).

A interferência da gordura na dissolução do CO₂ acontece devido parte desse gás na fase gasosa ser consumida na fase lipídica, deste modo, uma menor quantidade irá restar para se dissolver na fase aquosa do alimento. Isso resultará em uma concentração de CO₂ mais baixa em alimentos com maior teor de gordura (DEVLIEGHERE et al., 1998; SIVERTSVIK et al., 2004).

A utilização de elevadas concentrações de CO₂ (valores de 100% ou próximos) em pescados é geralmente evitada, pois têm sido relatadas algumas alterações sensoriais na textura e cor (SIVERTSVIK et al., 2002). Aliado a isso, quanto maior a presença de CO₂ na embalagem, menor será a produção de aminas, que são responsáveis por odores e sabores desagradáveis em produtos de peixe (MILNE; POWELL, 2014).

Frequentemente são utilizadas misturas de CO₂ com N₂ e O₂, embora, a presença de O₂ possa provocar problemas de oxidação dos lipídios. Neste caso, combinações de mistura gasosa com N₂, (gás inerte), pode ser usado como substituto, principalmente, para evitar o colapso das embalagens que utilizem elevada quantidade de CO₂ (SIVERTSVIK et al., 2002, GONÇALVES et al., 2009).

As combinações gasosas de dióxido de carbono (CO₂) e nitrogênio (N₂) têm sido as mais estudadas por vários pesquisadores na área de embalagem de peixe, na última década (BABIC et al., 2015). Além disso, essas misturas gasosas utilizadas na EAM são utilizadas em muitas pesquisas que avaliam a qualidade e as variações no frescor dos pescados durante o estudo da vida útil de produtos de peixe (SIMAT et al., 2012).

3. MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DO FRESCOR EM PEIXES

Desde a década de 1970, o modo tradicional de avaliar o frescor do peixe recorre à inspeção sensorial (ESTEVES; ANIBAL, 2007). Aliado a esse fato, a análise sensorial possui um fator determinante na aceitação do produto pelo consumidor. Essas técnicas tem papel fundamental em qualquer programa de controle de qualidade de alimentos, sendo, normalmente, o primeiro teste feito em peixes e produtos alimentícios, realizado por órgãos oficiais de controle de qualidade ligados à área de Saúde Pública (BORGES, 2013).

No Brasil, as características do peixe fresco, considerado próprio para consumo, são determinadas por legislação como o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) – art. 442 (BRASIL, 1997b), a Portaria nº 185 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 1997a) e normas, como as da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1993). Todavia, tais critérios não consideram a diversidade entre as espécies e não originam pontuações de qualidade sensorial que expressem o frescor do pescado (TEIXEIRA et al, 2009).

O estudo da estabilidade comercial refere-se à conservação das características de qualidade durante o prazo de estocagem previsto para o produto, ou seja, garantir que os parâmetros físico, químico, microbiológico e sensorial se mantenham durante a vida útil de um produto. Nesses estudos as amostras são estocadas em condições controladas e analisadas periodicamente através de métodos que avaliam características determinantes da qualidade (MARINHO, 2011).

3.1. AVALIAÇÃO SENSORIAL

Vários esquemas para análise sensorial de pescado fresco foram desenvolvidos, dentre os quais se destacam três: a escala Torry, o Esquema da União Europeia e o Método do Índice de Qualidade (MIQ) (MARINHO, 2011).

O método pioneiro para avaliação do pescado foi desenvolvido em 1950, pela *Torry Research Station*. Esse método utiliza quatro sentidos (visão, olfato, paladar e tato) para avaliar determinados atributos de qualidade do pescado (GONÇALVES, 2011). A partir dessas sensações observadas foram desenvolvidas três tabelas: para peixes magros, peixes com níveis intermediários de lipídeos e peixes gordurosos. Este método dá um único valor a um grande número de características, que varia de dez a zero, onde dez representa o estado máximo de frescor e zero a putrefação do pescado (HUSS, 1999; RODRIGUES, 2008).

Na Europa, o método mais comumente utilizado para avaliação da qualidade no serviço de inspeção e na indústria do pescado é a classificação de frescor, publicado no Regulamento (CE) nº 2406/96 do Conselho, de 26 de Dezembro, “relativo à fixação de normas comuns de comercialização para certos produtos da pesca”. Este regulamento também estabelece os “graus de frescor” dos produtos da pesca, com base na análise de atributos sensoriais, através de um “exame organoléptico” (BARBOSA; VAZ-PIRES, 2004; SIMAT et

al., 2009). As espécies são classificadas em categorias: Extra (E), A, B e Impróprio para consumo humano (C), de acordo com a média das várias características sensoriais. As categorias fazem correspondência com as cotações de 3 (Extra) a 0 (C), cuja média determina a avaliação final do lote de pescado (ESTEVEES; ANIBAL, 2007).

No entanto, esse tipo de esquema é limitado ao classificar a qualidade de várias espécies, não levando em conta as diferenças entre eles, sendo avaliados apenas os parâmetros gerais para um grande número de espécies (SYKES et al., 2009). Com isso, métodos sensoriais alternativos, como o *Quality Index Method* (QIM), têm sido sugeridos para a descrição do grau de deterioração de diferentes espécies (SIMAT et al., 2009). O QIM foi originalmente desenvolvido durante a década de 1980, pela Unidade de Pesquisa em Alimentos da Tasmânia (*Tasmanian Food Research Unit*) e tem sido apontado como sendo um método sensorial específico, preciso, objetivo, não destrutivo, rápido e simples de aplicar por requerer pouco treinamento (ESTEVEES; ANIBAL, 2007).

O MIQ consiste na avaliação dos diversos atributos de qualidade, como aparência, textura, olhos, guelras e abdômen, e na modificação desses, com o tempo de estocagem. A cada atributo é atribuído um score, que pode variar de 0 a 3. O pescado, no momento da captura, tem pontuação zero ou próxima disso. Conforme vai se deteriorando, os atributos vão obtendo pontuações mais elevadas, acumulando pontos de demérito, cujo valor máximo varia de acordo com o protocolo desenvolvido para cada espécie (SVEINSDOTTIR et al., 2002). A soma desses scores origina o Índice de Qualidade (IQ), o qual permitirá, além da avaliação da qualidade do pescado em questão, a previsão do prazo de vida comercial da espécie estudada (SVEINSDOTTIR et al., 2003; TEIXEIRA et al., 2009).

O MIQ foi inicialmente desenvolvido para peixe inteiro armazenado em refrigeração, mas, inúmeras pesquisas têm comprovado a sua eficácia em diferentes espécies de pescados “*in natura*” ou processados, armazenados sob refrigeração e/ou congelados, totalizando mais de 40 espécies, como mostra alguns exemplos apresentados na Tab. 1.1 (BARBOSA; VAZ-PIRES, 2004; GONÇALVES, 2010; SANT'ANA et al., 2011).

Segundo Sant'ana (2011), apesar do evidente número de publicações e o evidente esforço em desenvolver esquemas MIQ para diferentes espécies de pescado, ainda se mostra necessário e importante o desenvolvimento de protocolos para outras espécies ou produtos de peixe e até mesmo a otimização dos já publicados. No Brasil, até o momento, existem apenas três protocolos desenvolvidos para as espécies mais capturadas na pesca extrativa marinha:

Sardinella brasiliensis (ANDRADE et al., 2012), *Micropogonias furnieri* (TEIXEIRA et al., 2009) e *Cynoscion acoupa* (BILLAR DOS SANTOS et al., 2014).

Tabela 1.1. Referências de desenvolvimento de protocolos MIQ para pescados.

Espécie	Autores	Referência/Ano
<i>Panulirus argus</i>	Gonçalves, A. A.	Food Control (2015)
<i>Cynoscion acoupa</i>	Billar dos Santos, A. P.	LWT - Food Science and Technology (2014)
<i>Piaractus mesopotamicus</i>	Borges, A.	Food Research International (2013)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Cyprian, O.	Food Science & Nutrition (2013)
<i>Pagellus bogaraveo</i>	Sant'Ana, L. S.	LWT - Food Science and Technology (2011)
<i>Sepia officinalis</i>	Sykes, A. V.	LWT - Food Science and Technology (2009)
<i>Micropogonias furnieri</i>	Teixeira, M. S.	Revista Brasileira de Ciência Veterinária (2009)
<i>Solea senegalensis</i>	Gonçalves, A. C.	Journal of Agricultural and Food Chemistry (2007)
<i>Gadus morhua</i>	Bonilla, A. C.	Food Control (2007)
<i>Sardina pilchardus</i>	Ozogul, F., Ozogul, Y.	Food Chemistry (2006)
<i>Salmo salar</i>	Sveinsdottir, K.	Food Quality and Preference (2003)

Os resultados destes estudos têm demonstrado a importância do MIQ como a principal ferramenta para a avaliação sensorial de pescados, tanto para a utilização por pesquisadores (em laboratórios, para fins de investigação), em indústrias (para inspeção mais precisa e decisões claras sobre a qualidade dos peixes), assim como na comercialização de pescados (GONÇALVES et al., 2015). Têm sido propostos acompanhamentos com métodos instrumentais nesses estudos, devido à subjetividade das análises sensoriais.

Entretanto, dependendo da espécie estudada, muitas vezes a escolha de determinados métodos instrumentais não são suficientes para originar resultados que apresentem boa correlação, principalmente, devido à baixa sensibilidade de alguns métodos para as mudanças no frescor de peixes (GRIGORAKIS, 2010). Deste modo, é necessário que nas avaliações com o método MIQ, as escolhas dos métodos experimentais se baseia na particularidade das espécies, que consigam abranger grande parte das mudanças dos parâmetros de qualidade

(microbiológicos, físicos e químicos) e que possam predizer o mais aproximado possível a vida de prateleira dos pescados (SVEINSDOTTIR et al., 2002; SANT'ANA et al., 2011).

3.2. AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Os métodos físicos e químicos fornecem informações complementares para a avaliação sensorial e evidenciam as correlações significativas. As principais alterações físicas correlacionáveis com a qualidade de peixes referem-se a textura, a cor e o odor. A textura do pescado depende de vários fatores biológicos relacionados com a densidade das fibras musculares, gordura e colágeno. Após o abate, verifica-se que as reações proteolíticas provocam uma maior solubilização das proteínas estruturais, acarretando na perda de estrutura do tecido muscular (GONÇALVES, 2010). A análise de textura, que é realizada por métodos mecânicos, pode fornecer tanto resultados com utilidade limitada como um parâmetro de qualidade ou apresentar boa correlação entre a análise de textura instrumental e sensorial, isso dependerá de cada espécie estudada (OLAFSDOTTIR et al., 1997).

As alterações autolíticas e microbiológicas também influenciam nas mudanças da cor. Existem vários procedimentos instrumentais que permitem avaliar a cor dos alimentos, o mais utilizado é o colorimétrico, que pode implicar em resultados correlacionáveis com a análise sensorial (GONÇALVES et al., 2009).

O odor é um dos indicadores principais que os consumidores utilizam para avaliar o frescor do peixe no momento da compra. Essa característica muda rapidamente de acordo com o grau de frescor do produto e as substâncias orgânicas voláteis que contribuem para o odor característico podem ser medidas e usadas como marcadores de qualidade (OLAFSDOTTIR et al., 2002). Os compostos orgânicos voláteis (odores) têm sido estudados como potenciais avaliadores do frescor/deterioração devido apresentar variação significativa no processo da perda total da qualidade (PARLAPANI et al., 2015).

Geralmente, as substâncias voláteis são identificados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), do extrato bruto obtido através de métodos de extração (TRIQUI; BOUCHRITI, 2003). A escolha do método de isolamento dos compostos é muito importante e deve ser baseada na particularidade da amostra e no objetivo do estudo. Geralmente, os métodos de extração das substâncias voláteis são: extração líquido-líquido, extração por destilação simultânea (SDE), métodos dinâmicos e estático de *headspace*,

microextração em fase sólida (SPME), extração em barra de agitação e sortiva, dentre outros (CAPRINO et al., 2008).

A extração por SDE combina simultaneamente duas técnicas, a destilação por arraste a vapor e a extração líquido-líquido (SCHULTZ et al., 1977). Este procedimento tem demonstrado confiabilidade para a extração de compostos voláteis de diferentes espécies de peixes, como: cavala, atum, enguia (MORITA et al., 2003), salmão defumado e filé de truta (SELLY; CAYHAN, 2009). O método foi criado em 1964, quando Likens e Nickerson projetaram um extrator original para a análise de óleo de lúpulo. Alguns estudos posteriores acarretaram em condições de exploração adequadas das substâncias voláteis com o uso do SDE, através do melhoramento do aparato utilizado e também visando aumentar a versatilidade da aplicação (CAPRINO et al., 2008).

Segundo Caprino et al. (2008), para fins de caracterização o método de extração por destilação simultânea é adequado para o isolamento de voláteis por ser uma técnica que apresenta representatividade na extração, mesmo com a presença de componentes provenientes da degradação térmica do extrato, que vai depender do tipo de matriz analisada. No estudo de extração por SDE das substâncias voláteis do caviar, obtidas a partir da espécie esturjão branco, os autores demonstraram que o uso do método conseguiu extrair, principalmente, aldeídos que são os principais compostos responsáveis pelo aroma do caviar.

Alcoóis, aldeídos, cetonas, aminas e compostos de enxofre já foram identificados em diferentes peixes armazenados sob refrigeração (OLAFSDOTTIR et al., 2005). Selli e Cayhan (2009) conseguiram extrair e identificar 46 compostos voláteis, sendo a maioria aldeídos e alcoóis, encontrados no peixe pargo (*Sparus aurata*) pelas técnicas de SDE e GC-MS.

Além dos compostos formados durante o processo de deterioração, é importante ressaltar que o uso de métodos de análises que avaliem o perfil químico das substâncias orgânicas voláteis encontradas em cada espécie está diretamente ligado ao habitat e dieta dos peixes. Diante disso, a escolha de técnicas de extração e quantificação altamente eficientes deve ser adotada devido à necessidade de detectar e avaliar a qualidade dos peixes, em relação a diferentes agentes na formação dos voláteis; até mesmo para determinar contaminantes nos organismos marinhos que habitam, principalmente, as regiões com águas costeiras. O uso integrado de análises químicas pode estabelecer critérios para a detecção de contaminantes no ecossistema aquático, que podem estabelecer a qualidade toxicológica dos peixes (RIBEIRO, 2007; NETO, 2015).

A determinação do pH também representa um dado importante na avaliação da qualidade de peixes, até o final do *rigor mortis*. De acordo com o RIISPOA (BRASIL, 1997), o pescado considerado fresco é aquele que tem pH do músculo entre 6,5 e 6,8. Durante a atividade física (como, por exemplo, quando o peixe se debate como oposição a captura), o glicogênio é degradado para liberar a energia necessária para esta atividade, sendo um dos produtos dessa reação o ácido lático, o qual é responsável pela diminuição do pH (BORGES, 2009). Essas alterações se baseiam no pressuposto que certas reações químicas e a atividade microbiana são cineticamente sincronizadas (OLAFSDOTTIR et al., 1997).

Segundo Ogawa (1999), os métodos químicos mais utilizados para uma melhor avaliação da qualidade e frescor do pescado são: nitrogênio das bases voláteis totais (N-BVT), óxido de trimetilamina (OTMA) e nitrogênio da trimetilamina (N-TMA). Usualmente, utiliza-se a dosagem de N-BVT para avaliação da qualidade do pescado, indicando o nível de deterioração, pois determina a concentração conjunta de amônia e trimetilamina (TMA). No entanto, essa medida varia dependendo das espécies, temperatura e tempo de armazenamento (OLAFSDOTTIR et al., 1997). Em muitas espécies a produção de TMA ocorre em paralelo aos catabólitos da degradação do ATP, expressa através do índice K (GONÇALVES, 2010).

O processo de oxidação que ocorre na fração lipídica do peixe, também é um processo autolítico importante na deterioração química, que origina um extenso espectro de odores e sabores (ranço), devido à formação de aldeídos, cetonas, alcoóis e ácidos carboxílicos (GRAM; HUSS, 1996; RODRIGUES, 2008). Os compostos oxidados secundários, como o aldeído malônico (MDA), são mais estáveis que outros compostos durante a oxidação lipídica, que ao reagir com o ácido tiobarbitúrico (TBA) origina o índice de TBARS, o qual tem sido o método mais utilizado em diversas matrizes alimentares (OLAFSDOTTIR et al., 1997; GONÇALVES, 2010).

A presença de aminas biogênicas nos alimentos reveste-se de grande importância por dois aspectos fundamentais: deterioração e segurança alimentar. Estes compostos resultam normalmente da descarboxilação de aminoácidos livres. Esta descarboxilação ocorre por ação de enzimas endógenas ou de bactérias (GONÇALVES, 2010). Na Fig. 1.1 estão esquematizadas as vias de formação das aminas biogênicas a partir dos aminoácidos precursores.

O consumo de alimentos contendo elevada concentração de aminas biogênicas, com destaque para a histamina, pode ter efeitos adversos, do tipo vasoativo e psicoativo, ou ambos.

A possibilidade de utilizar a concentração destes compostos como um critério para avaliar a qualidade de peixes e produtos de peixes tem sido amplamente avaliada, devido a vários fatores que condicionam a produção de aminas, como a disponibilidade de aminoácidos, a presença de micro-organismos com atividade descarboxilante e a falta de controle das temperaturas de conservação (TEN BRINK et al., 1990). A presença de aminas biogênicas geralmente é medida por cromatografia em camada delgada (CDC) ou cromatografia líquida (HPLC) (GONÇALVES, 2010).

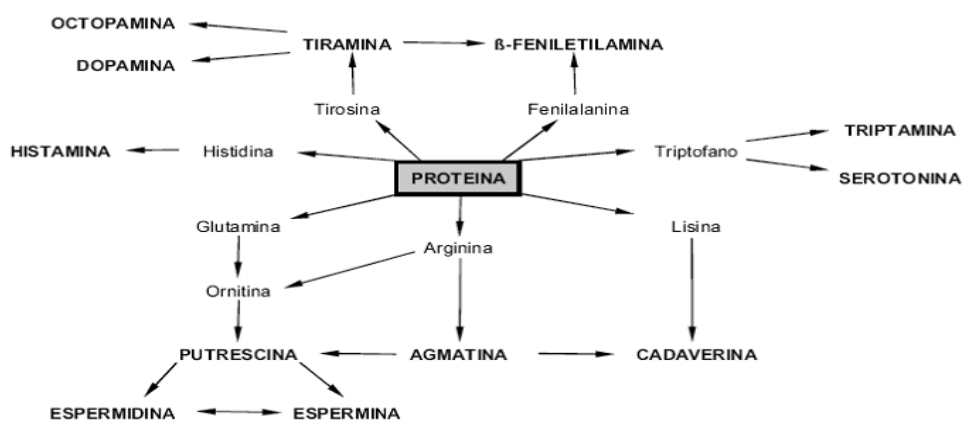


Figura 1.1. Vias de formação das aminas biogênicas.

Fonte: SANTOS, 2008

A determinação da qualidade nutricional dos peixes também é importante ser ressaltada como critério de escolha das espécies mais consumidas por consumidores cada vez mais exigentes. O conhecimento acerca do perfil de ácidos graxos em peixes é limitado e, pode variar entre as espécies, principalmente, quanto à composição de ácidos graxos poli-insaturados. Os efeitos benéficos dos ácidos graxos não dependem apenas dos seus teores e da proporção entre poli-insaturados/saturados, mas também da proporção n-6:n-3 existentes nos fosfolípidios de membranas (ARAÚJO, 2013).

As alterações dos lipídios no pescado devem-se a reações de hidrólise e de oxidação. A importância de cada uma destas reações na alteração da qualidade de pescado depende sobretudo da espécie, da forma de comercialização e da conservação. A hidrólise dos lipídios ocorre por ação de enzimas endógenas, principalmente lipases digestivas (presentes no trato digestivo do pescado). Deste modo, a taxa de lipólise é mais rápida em peixe inteiro do que em peixe eviscerado ou filés (GONÇALVES, 2010).

3.3. AVALIAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Na primeira fase da deterioração, o músculo do pescado está estéril, ou seja, a flora bacteriana presente no intestino, brânquias e pele ainda não se adaptaram às alterações ocorridas logo após a captura (GRAM; HUSS, 1996). Após as mudanças originadas das reações enzimáticas, a ação do metabolismo de bactérias proteolíticas e lipolíticas torna-se possível e fica mais evidente pela produção de odores e outros sinais de deterioração (GRAM; DALGAARD, 2002).

A caracterização microbiológica para verificar quais e quantos micro-organismos estão presentes no alimento é fundamental para conhecer os riscos que o alimento pode oferecer à saúde do consumidor, as condições de higiene em que o alimento foi manipulado e/ou processado e como deve ser feito o armazenamento para o alimento ter a validade comercial pretendida (BORGES, 2013).

O prolongamento da qualidade do peixe está ligado à quantidade de informações existe sobre suas características. Isso se deve, principalmente, devido a elevada perecibilidade desse alimento e pelo grande número de micro-organismos patogênicos proveniente da contaminação ambiental ou manipulação incorreta (SIMON; SANJEEV, 2007; MOL; TOSUN, 2011).

No processamento de peixes os micro-organismos presentes no intestino e sobre a pele podem contaminar o músculo por manipulação inadequada e através de um armazenamento incorreto esses organismos podem ser transmissores de doenças de origem alimentar (CRUZ-ROMERO et al., 2008). As espécies microbianas que contribuem para a deterioração e/ou patogenicidade e que estão presentes no trato gastrointestinal de peixes variam com a idade, alimentação e condições ambientais (NAYAK, 2010).

A microflora de peixes de clima temperado é dominada por bactérias psicrotróficas gram-negativas pertencentes aos gêneros: *Pseudomonas*, *Moraxellu*, *Acinetobacter*, *Shewanellu*, *Fluvobacterium*, *Vibrionuceue* e *Aeroemonaduceue*. Também são encontrados organismos gram-positivos, como: *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Luctobacillus* e *Corynebacterium* (GRAM; HUSS, 1996). No entanto, poucos estudos relatam o conhecimento da flora específica de cada tipo de peixes e também como determinada condições de armazenamento podem afetar o crescimento de cada organismo e o mecanismo

de interação desses grupos no processo de deterioração e/ou conservação do peixe (LALITHA; SURENDRAN, 2006; AL-BULUSHI et al., 2010).

Estudos atuais, como o desenvolvido por Oku e Amakoromo (2013), relataram o isolamento de doze bactérias em amostras de peixes de água doce da Nigéria e cinco espécies se destacaram: *B. subtilis*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas* e *S. aureus*. Damasceno et al. (2015) estudaram a composição da flora bacteriana em tucunaré (*Cichla ocellaris*) e piramutaba (*Brachyplatystoma vailantii*) e identificaram 16 cepas, sendo os gêneros mais importantes: *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas* e *Enterobacter*. No entanto, nenhuma das estirpes alcançou o crescimento quando submetidas a temperaturas de 10 e 15°C.

Nos processos de conservação e deterioração, o método de contagem de micro-organismos em placas é um método geral, que pode ser utilizado para contagem de grandes grupos microbianos presentes no músculo, oriundos da microbiota do peixe ou da contaminação do próprio homem pela manipulação indevida. Esse método tem como base a Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas (CBHAM) e Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Psicrotróficas (CBHAP), que são utilizados para se estimar a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos (MARINHO, 2011).

Na legislação brasileira para alimentos não está previsto limites para contagem em placas de CBHAM e CBHAP, em músculo de peixe fresco. Mas, a legislação internacional, para este fim, estabelece o limite máximo aceitável de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) em 7 log UFC/g (ICMSF, 2005). Na legislação brasileira não é contemplado o limite para estes micro-organismos, devido não constituírem risco para a saúde coletiva, no entanto, os micro-organismos psicrotróficos são os principais deterioradores do pescado refrigerado e diminuem a vida útil do produto (BORGES, 2013).

No Brasil, a Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), RDC nº. 12, do Ministério da Saúde, de 2 de Janeiro de 2001, estabelece os padrões microbiológicos sanitários para alimentos destinados ao consumo humano, e estabelece que a contagem de Estafilococos coagulase positiva seja inferior a 10^3 UFC/g e ausência de *Salmonella* em peixe fresco torna-o impróprio para o consumo humano. Entretanto, a referida Resolução não estabelece padrão para a contagem de bactérias do grupo coliformes para o pescado fresco (BRASIL, 2001).

REFERÊNCIAS

- AL-BULUSHI, I. M.; POOLE, S. E.; BARLOW, R.; DEETH, H. C.; DYKES, G. A. Speciation of Gram-positive bacteria in fresh and ambient-stored sub-tropical marine fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 138, p. 32-38, 2010.
- ANDRADE, S. C. S.; MÁRSICO, E. T.; FRANCO, R. M.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S.; QUEIROZ, M. F. Shelf life of chilled and whole sardines evaluated by physical-chemical, bacteriological and sensory analyses. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1901 – 1907, 2012.
- ARAÚJO, D.H.P. **Determinação de histamina e outras aminas bioativas e perfil de ácidos graxos de peixes da região Amazônica**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.
- BABIC, J.; MILIJASEVIC, M.; VRANIC, D.; VESKOVIC-MORACANIN, S.; DJINOVIC-STOJANOVIC, J. Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of common carp (*Cyprinus carpio*) steaks. **Procedia Food Science**, v. 5, p. 2-5, 2015.
- BARBOSA, A.; VAZ-PIRES, P. Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*). **Food Control**, v. 15, p. 161 - 168, 2004.
- BILLAR DOS SANTOS, A. P.; KUSHIDA, M. M.; VIEGAS, E. M. M.; LAPA-GUIMARÃES, J. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 267 – 275, 2014.
- BORGES, A. **Parâmetros de qualidade do pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e do seu híbrido eviscerados e estocados em gelo**. 2013. Tese (Doutorado em Área de Concentração: Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Portaria n° 185, de 13 de maio de 1997. Regulamento técnico de identidade e qualidade de peixe fresco (inteiro e eviscerado). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 19 de Maio, 1997a.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Decreto N° 2.244 de 04 de junho de 1997. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF. 05 de Junho, 1997b.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, n.7, Seção 1, Brasília, DF. 10 de Janeiro, 2001.
- CAPRINO, F. et al. Fatty acid composition and volatile compounds of caviar from farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). **Analytica Chimica Acta**, v. 617, p. 139 – 147, 2008.

CRUZ-ROMERO, M.; KELLY, A. L.; KERRY, J. P. Influence of packaging strategy on microbiological and biochemical changes in high-pressure-treated oysters (*Crassostrea gigas*). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, p. 2713-2723, 2008.

DAMASCENO, E. I. T.; PANTOJA, L. N. G.; FIGUEIREDO, H. M.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C. Microbiota of two species of commercially important fish in the Amazon region (Belém-Pará-Brazil): Butterflypeacock bass (*Cichia ocelaris*) and piramutaba (*Brachyplatystoma vailantii*). **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n.9, p. 572-580, 2015.

DEVLIEGHIERE, F., DEBEVERE, J., VAN IMPE, J. Concentration of carbon dioxide in the water-phase as a parameter to model the effect of a modified atmosphere on microorganisms. **International Journal of Food Microbiology**, v. 43, p. 105 – 113, 1998.

DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Influence of dissolved carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 33, p. 531-537, 2000.

ESTEVEZ, E.; ANÍBAL, J. Quality Index Method (QIM): utilização da análise sensorial para determinação da qualidade do pescado. **Actas do 13º Congresso do Algarve**, Racal-Clube, Lagos, Portugal, p. 365-373, 2007.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **World fisheries production, by capture and aquaculture, by country**. FAO Fisheries and Aquaculture Department, 2005.

FONTES, M. C. et al. Estado de frescor e qualidade higiênica do pescado vendido numa cidade do interior de Portugal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 5, 1308-1315, 2007.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. Ed. Atheneu Rio, Rio de Janeiro, 2011.

GONÇALVES, A. A.; LIMA, J. T. A. X.; PAULA, F. E. R. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for spiny lobster (*Panulirus argus*, Latreille, 1804) stored in ice. **Food Control**, v. 47, p. 237-245, 2015.

GONÇALVES, A. C.; ANTAS, S. E.; NUNES, M. L. Freshness and Quality Criteria of Iced Farmed Senegalese Sole (*Solea senegalensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3452-3461, 2007.

GONÇALVES, A. C. et al. Effect of enriched oxygen atmosphere storage on the quality of live clams (*Ruditapes decussatus*). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 44, p. 2598–2605, 2009.

GONÇALVES, A. C. **Qualidade e valorização em aquacultura propriedades sensoriais e período de conservação útil de peixe e bivalves**. 2010. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Universidade de Lisboa, Portugal, 2010.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 121-137, 1996.

GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria- problems and solutions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 262-266, 2002.

GRIGORAKIS, K.; DIMOGIANOPOULOS, D. Cost-effective and nondestructive textural assessment of fish freshness via system identification principles. **Journal of Texture Studies**, v. 41, p. 492–510, 2010.

HUSS, H. H. **El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad**. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 1999.

IKEDA, R. G. P. **Idade, crescimento e aspectos reprodutivos de *Macrodon ancylodon* na costa Norte do Brasil**. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência, área de Oceanografia Biológica) - Universidade de São Paulo, 2003.

LALITHA, K. V.; SURENDRAN, P. K. Microbiological changes in farm reared freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) in ice. **Food Control**, v. 17, p. 802-807, 2006.

MANTILLA, S. P. S. et al. Atmosfera modificada e irradiação: métodos combinados de conservação e inocuidade alimentar. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, jul. 2010.

MARINHO, L. S. **Critérios para avaliação da qualidade da piramutaba (*Brachyplatystoma vaillantii*) inteira estocada em gelo**. 2011. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense (UFF), Niteroi, 2011.

MILNE, D.; POWELL, S. M. Limited microbial growth in Atlantic salmon packed in a modified atmosphere. **Food Control**, v. 42, p. 29-33, 2014.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Informações e Estatísticas. Estatística da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2010**. Brasil, Brasília, 2012. 128 p.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura 2011**. Brasília, DF, 2013. 60 p.

MOL, S.; TOSUN, Y. The quality of fish from retail markets in Istanbul, Turkey. **Journal of Fisheries Science**, v. 5, n. 1, p. 16-25, 2011.

MORITA, K.; KUBOTA, K.; AISHIMA, T. Comparison of aroma characteristics of 16 fish species by sensory evaluation and gas chromatographic analysis, **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 83, p. 289–297, 2003.

NAYAK, S. K. Role of gastrointestinal microbiota in fish. A Review. **Aquaculture Research**, v. 41, p. 1553 – 1573, 2010.

NETO, L. S. **Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos em distintos níveis de organização biológica**. Tese (Doutorado em Zoologia) - Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2015.

NIELSEN, D.; GREEN, D. Developing a Quality Index grading tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*) based on the Quality Index Method. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 86-94, 2007.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado**. v. 1. 430p. São Paulo: Livraria Varela, 1999.

OLAFSDOTTIR, G.; MARTINSDOTTIR, E.; OEHLENSCHLAGER, J.; DALGAARD, P.; JENSEN, B.; UNDERLAND, I.; MACKIE, I. M.; HENEHAN, G.; NIELSEN, J.; NIELSEN, H. Methods to determine the freshness of fish in research and industry. **Trends Food Science and Technology**, v. 8, p. 258–265, 1997.

OLAFSDOTTIR, G. et al. Precision and application of electronic nose for freshness monitoring of whole redfish (*Sebastes marinus*) stored in ice and modified atmosphere bulk storage. **Journal Aquatic Food Prod Technology**, v. 11, p. 229–249, 2002.

OLAFSDOTTIR, G. et al. Characterization of volatile compounds in chilled cod (*Gadus morhua*) fillets by gas chromatography and detection of quality indicators by an electronic nose. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p. 10140–10147, 2005.

OKU, I.; AMAKOROMO, E. R. Microflora of fresh and smoke-dried fish in Yenagoa metropolis, Nigeria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 35, p. 4451-4456, 2013.

OZOGUL, F.; POLAT, A.; OZOGUL, Y. The effects of modified atmosphere packaging and vacuum packaging on chemical, sensory and microbiological changes of sardines (*Sardina pilchardus*). **Food Chemistry**, v. 85, p. 49 – 57, 2004.

OZOGUL, F.; OZOGUL, Y. Biogenic amine content and biogenic amine quality indices of sardine (*Sardina pilchardus*) stored at modified atmosphere packaging and vacuum packaging. **Food Chemistry**, v. 99, p. 574 – 578, 2006.

PARLAPANI, F. F. et al. Microbiological spoilage and volatiles production of gutted European sea bass stored under air and commercial modified atmosphere package at 2 °C. **Food Microbiology**, v. 50, p. 44-53, 2015.

REDDY, N. R.; ARMSTRONG, D.J. Shelf-life extension and safety concerns about fresh fishery products package under modified atmospheres: A review. **Journal of Food Safety**, v. 12, p. 87-118, 1992.

RIBEIRO, E. A. **Efeitos de concentrações subletais dos hidrocarbonetos poliaromáticos específicos btx (benzeno, tolueno e xileno) no peixe *Sphoeroides testudineus* (Linnaeus, 1758) através de biomarcadores bioquímicos e histológicos**. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Universidade Federal do Paraná, 2007.

RODRIGUES, T. P. **Estudo de critérios para avaliação da qualidade da tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada; eviscerada e estocada em gelo**. Tese (Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, 2008.

SANT'ANA, L. S.; SOARES, S.; VAZ-PIRES, P. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **Food Science and Technology**, v. 44, p. 2253-2259, 2011.

SANTOS, J. M. S. **Filés de pregado (*Psetta maxima*) embalados em atmosfera modificada: Avaliação da qualidade física, química e microbiológica**. Dissertação (Mestre Controle de Qualidade na área Científica em Água e Alimentos) - Universidade do Porto, Portugal, 2008.

SANTOS, S.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Genetic differentiation of Macrodon ancylodon (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 2, p. 151-161, 2003.

SELLI, S.; CAYHAN, G. G. Analysis of volatile compounds of wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) by simultaneous distillation–extraction (SDE) and GC–MS. **Microchemical Journal**, v. 93, p. 232 – 235, 2009.

SIMAT, V. et al. Effect of different storage conditions on dielectric properties of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*). **Acta Adriatica**, v. 50, n. 1, p. 5-10, 2009.

SIMAT, V. et al. Differences in chemical, physical and sensory properties during shelf life assessment of wild and farmed gilthead sea bream (*Sparus aurata*, L.). **Journal Applied. Ichthyology**, v. 28, p. 95–101, 2012.

SIMON, S. S.; SANJEEV, S. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. **Food Control**, v. 18, p. 1565-1568, 2007.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; ROSNES, J. T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 107-127, 2002.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W. K.; ROSNES, J. T. Solubility and absorption rate of carbon dioxide into nonrespiring foods. Part 2: Raw fish fillets. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 451 – 458, 2004.

SVEINSDOTTIR, K.; MARTINSDÓTTIR, E.; HYLDIG, G. Application of quality index method (QIM) scheme in shelf-life study of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*). **Journal of Food Science**, v. 67, p. 1570-1579, 2002.

SVEINSDOTTIR, K.; MARTINSDÓTTIR, E.; HYLDIG, G. Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 237-245, 2003.

SYKES, A. V.; OLIVEIRA, A. R.; DOMINGUES, P. M.; CARDOSO, C. M.; ANDRADE, J. P.; NUNES, M. L. Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods, **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 424-432, 2009.

SZPILMAN, M. **Peixes marinhos do Brasil: Guia prático de identificação**. Instituto Ecológico Aqualung, 288p. Rio de Janeiro, 2000.

TEIXEIRA, M. S.; BORGES, A.; FRANCO, R. M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FREITAS, M. Q. Método de índice de qualidade (QIM): desenvolvimento de um protocolo sensorial para corvina (*Micropogonias furnieri*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 83-88, 2009.

TEN BRINK, B. et al. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. **International Journal of Food Microbiology**, v. 11, p. 73-84, 1990.

TRIQUI, R.; BOUHRITI, N. Freshness Assessments of Moroccan Sardine (*Sardina pilchardus*): Comparison of Overall Sensory Changes to Instrumentally Determined Volatiles. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 7540 – 7546, 2003.

CAPÍTULO II

AValiação POR DIFERENTES MÉTODOS DE QUALIDADE E DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE ÍNDICE DE QUALIDADE (QIM) PARA A PESCADA-GÓ (*Macrodon ancylodon*) INTEIRA CONSERVADA EM GELO

RESUMO

O objetivo desta pesquisa foi avaliar o frescor da pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira armazenada em gelo e as alterações ocorridas durante o armazenamento. Foi realizada avaliação sensorial através do Método de Índice de Qualidade (QIM) e determinada a composição centesimal, pH, bases voláteis nitrogenadas totais (N-BVT), índice do ácido tiobarbitúrico (TBRAS), aminas biogênicas, ácidos graxos, substâncias orgânicas voláteis, a textura e acompanhamento microbiológico. O Índice de Qualidade (IQ) obtido em função do tempo de armazenamento apresentou aumento linear, variando de 2 (máximo frescor) a 21 (perda total de frescor) pontos de deméritos, apresentando alta correlação ($R^2=0,9868$) entre os dados. Os resultados microbiológicos mostraram um aumento na contagem de psicrotróficos e mesófilos ao longo do tempo de armazenamento. O valor de N-BVT variou de 11,06 a 28 mg/100g; o pH de 6,8 a 7,48 e o TBARS de 0,235 a 0,298 mgMDA/Kg no 1º e 18º dia de armazenamento em gelo, respectivamente. As substâncias voláteis e o perfil de ácidos graxos encontrados demonstraram perda de qualidade e valor nutricional da pescada gó durante a estocagem. As aminas putrescina, cadaverina e espermidina apresentaram teor elevado no 14º dia. Estes resultados indicam que a pescada gó inteira armazenada em gelo está adequada para o consumo até o 11º dia.

Palavras-chave: pescada gó, qualidade, avaliação sensorial, vida útil, armazenamento.

1. INTRODUÇÃO

O *Quality Index Method* (QIM) é reconhecido como referência na determinação sensorial do frescor de pescados sendo considerado o sistema de classificação sensorial mais útil para estabelecer de forma confiável a qualidade, esse método requer pouco treinamento, além de ser preciso e não destrutivo (NIELSEN; GREEN, 2007). Diferentemente de outros métodos sensoriais que tomam como base parâmetros gerais para grupos de espécies, como a escala Torry, o Esquema da União Europeia e as normatizações de alguns países, o QIM considera as diferenças sensoriais entre as espécies de pescado (SYKES et al., 2009).

Esse método sensorial foi originalmente desenvolvido na década de 1980 pela Unidade de Pesquisa em Alimentos da Tasmânia (*Tasmanian Food Research Unit*) (Bremner, 1985), visando avaliar as modificações dos atributos de qualidade, como aparência, olhos, guelras e abdômen (NIELSEN; GREEN, 2007). O protocolo MIQ é uma lista de atributos pontuados em escores ou deméritos, onde a soma desses deméritos origina o Índice de Qualidade (IQ), que por variar linearmente com o tempo de estocagem, prevê o dia equivalente de armazenamento, a vida útil restante para cada espécie e o momento da rejeição (imprópria) para o consumo (SVEINSDOTTIR et al., 2003; BILLAR DOS SANTOS et al., 2014).

Devido à complexidade dos estudos relacionados com a qualidade e frescor dos peixes, o estabelecimento da vida de prateleira envolve além da avaliação sensorial, a correlação com as alterações dos diferentes parâmetros de qualidade associados aos processos bioquímicos, físicos, físico-químicos e microbiológicos que ocorrem no *post-mortem* e afetam o frescor dos pescados durante o armazenamento (VAZ-PIRES et al., 2006).

A utilização de métodos alternativos para estudos de vida de prateleira que correlacionem diferentes critérios de qualidade é uma necessidade emergente que está ligada ao conceito complexo de qualidade para pescados e marcadores químicos e bioquímicos. As substâncias orgânicas voláteis são consideradas marcadores químicos usados na avaliação do perfil químico da qualidade dos peixes e estão ligadas as características da espécie (habitat, dieta, etc) e condições de manipulação e armazenamento (OLAFSDOTTIR et al., 1997). Além disso, a escassez de dados referentes aos teores de aminas biogênicas, bem como dados relacionados a aspectos nutricionais, como os perfis de ácidos graxos, se faz necessário

avaliar esses marcadores de qualidade durante o estudo da estabilidade comercial das espécies.

Os resultados de estudos com o MIQ e a sua correlação com outros métodos que estimem a qualidade têm demonstrado a importância dessas ferramentas para a avaliação de pescados, tanto para a utilização por pesquisadores (em laboratórios, para fins de investigação), em indústrias (para inspeção mais precisa e decisões claras sobre a qualidade dos peixes) assim como na comercialização de pescados (GONÇALVES et al., 2015).

No entanto, das onze espécies mais capturadas e que somadas representam mais da metade (50,7%) do total de peixes da produção da pesca marinha brasileira, somente em três espécies foi desenvolvido o protocolo QIM: *Sardinella brasiliensis* (ANDRADE et al., 2012), *Micropogonias furnieri* (TEIXEIRA et al., 2009) e *Cynoscion acoupa* (BILLAR DOS SANTOS et al., 2014). A pescadinha-real ou pescada-gó, está entre as espécies mais capturadas no ano de 2010, com uma produção de 10.507 toneladas (BRASIL, 2012), possui uma ampla distribuição geográfica na América do Sul, e o alto consumo está relacionado ao seu valor comercial e nutricional.

Baseados na importância comercial e nas exigências acerca da qualidade e menor perecibilidade, o objetivo da presente pesquisa foi estabelecer o frescor da pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira armazenada em gelo, através da avaliação sensorial (protocolo QIM) e correlação com as análises microbiológicas, físico-químicas e identificação de marcadores químicos voláteis.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS

Foram utilizados 95 pescadas-gó inteiras com peso médio de 460 g e comprimento médio de 32 cm, coletadas em período mais chuvoso na região situada à 150 Km da costa do Marajó, próximo ao local de encontro entre o Rio Pará e o Oceano Atlântico. Os peixes foram separados em quatro lotes obtidos durante os meses de verão: julho (lote 1), agosto (lote 2) e setembro (lote 3) e no inverno: fevereiro (lote 4). Após a coleta, todos foram armazenados em caixas plásticas, cobertos com gelo na proporção de 1:1 e separados com uma fina película

plástica para evitar o contato direto com o gelo. As caixas foram mantidas por 18 dias em câmara fria ($1 \pm 0,5^\circ\text{C}$), com reposição de gelo realizada diariamente mantendo o peixe a 0°C .

Para o estudo dos parâmetros de qualidade foram analisados 5 peixes por dia de cada lote, sendo 3 para as análises sensorial e físico-química e 2 para microbiológica. A análise sensorial foi desenvolvida dentro das dependências da Indústria de Pesca e as demais análises foram realizadas no Laboratório de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal do Pará.

2.2 DESENVOLVIMENTO DO PROTOCOLO MIQ

Para desenvolver o protocolo de qualidade pelo Quality Index Method da pescada gó inteira armazenada em gelo foi adotada a metodologia de Sveinsdottir et al. (2003).

O lote 1 foi utilizado para a obtenção do protocolo preliminar (Fase 1), o lote 2 para o treinamento dos membros do painel (Fase 2) e os lotes 3 e 4 para a aplicação do protocolo MIQ e obtenção do IQ (Fase 3). A seleção dos julgadores e desenvolvimento do protocolo MIQ, ocorreu na Indústria de Pesca, onde 4 julgadores (1 homem e 3 mulheres) foram selecionados entre os funcionários do Controle de Qualidade. O treinamento para o MIQ teve início com uma sessão de esclarecimento sobre os fundamentos e princípios do método. Todas as sessões das fases duraram cerca de 1 h cada, realizadas em sala com temperatura de 20°C , iluminação adequada e com os julgadores usando máscaras, luvas e touca. As amostras foram obtidas de forma aleatória e retiradas do gelo 30 minutos antes do início das sessões, mantidas em bandejas de cor clara, codificadas com números de 3 dígitos e sem informação do dia exato de estocagem dos peixes.

Na Fase 1 as alterações sensoriais das amostras da pescada gó inteira armazenada em gelo que ocorriam a cada 24 horas eram anotadas pelos julgadores em fichas de avaliação, sendo utilizados os principais parâmetros sensoriais observados pelos julgadores para a obtenção do protocolo MIQ preliminar.

Na Fase 2 foi realizado o treinamento dos julgadores durante a avaliação das amostras não sendo informado o dia e por consenso, foi elaborada a versão final do protocolo MIQ para a pescada gó inteira armazenada em gelo, baseada nos comentários finais e sugestões dos julgadores.

Na última fase foi obtido o Índice de Qualidade (IQ) através da aplicação do protocolo MIQ final desenvolvido, utilizando os lotes 3 e 4. A amostragem dos peixes foi realizada nos dias 1, 4, 8, 11, 14 e 18, sem informação do dia de estocagem para os julgadores.

2.3 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

Foram realizadas análises de umidade, proteínas, lipídeos, cinzas e pH (AOAC, 2000). Bases Voláteis Totais (N-BVT) através do método descrito em Brasil (1999) e Índice de Ácido Tiobarbitúrico (TBARS) utilizando metodologia proposta por Vyncke (1970). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A análise instrumental de textura foi realizada usando um Analisador de Textura QTS, Brookfield, através da metodologia de Sigurgisladottir et al. (1999), utilizando as seguintes condições de teste: temperatura ambiente, medida de força em compressão, velocidade de teste de 2,0 mm/s, trigger point de 0,1 N, distancia 214 mm, target value 10 N e probe cilíndrica (36 mm). As amostras foram cortadas em cubos de 2 x 2 x 1 cm para determinar a firmeza (consistência).

2.4 PERFIL QUÍMICO DE MARCADORES DE QUALIDADE

Aminas biogênicas

A quantificação das aminas biogênicas foi realizada seguindo os procedimentos descritos por Silva et al. (2011). A extração ocorreu através da coleta de cinco gramas do músculo dos peixes (parte dorsal do filé) durante o período de estocagem, seguida de adição de 7 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 5% em três extrações sucessivas e filtragem em membrana HAWP (0,45 µm), antes da análise por HPLC.

Análise cromatográfica em HPLC

As aminas foram quantificados em HPLC utilizando coluna de fase reversa (Nova-Pak C18, 300 x 3,9 mm, 4 µm), uma pré-coluna (Nova-Pak C18, 20 x 3,9 mm, 4 µm) e detecção fluorimétrica. A fase móvel consistiu de acetonitrila e água. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Substâncias orgânicas voláteis

Os compostos voláteis foram extraídos por SDE com hexano em aparato Likens-Nickerson. Cinco gramas de amostra foram retiradas e a extração por SDE ocorreu através de arraste simultâneo de vapores e condensação por recirculação de água a 3°C. Foram utilizados dois balões de fundo redondo acoplados ao aparato: um balão continha a amostra adicionada de 12,5 mL de água ultra-pura e o segundo 5 mL de hexano. A câmara de separação do aparato foi preenchida de partes iguais de hexano e água ultra-pura. Os balões foram aquecidos até o ponto de ebulição, permanecendo o balão com hexano em banho-maria a 80 °C. A duração da extração por destilação simultânea foi de 2 horas e meia. Ao final, os extratos foram armazenados em frascos de vidro e mantidos a - 26 ° C para posterior análise em CG/EM.

Ácidos graxos

Para determinar o perfil de ácidos graxos à fração lipídica foi extraída pelo método descrito por Bligh; Dyer (1959). Em seguida, foram transesterificadas em tubos cônicos, com 100 µL de hexano seco, 200 µL de solução de KOH 2N em metanol, aquecidas em banho-maria a 55°C por 20 minutos sob sonicação. Os ésteres foram extraídos com 250 µL de hexano (3x) e a fase orgânica foi transferida para outros tubos. O material resultante no tubo inicial foi evaporado e adicionado de 250 µL de HCL 2N, aquecidos a 40°C / 5 minutos em banho-maria e a extração dos compostos acidificados foi realizada com 250 µL de hexano (3x) e transferido para os tubos com a fase orgânica. A solução resultante foi evaporada até a secura em turbovap (45°C/5 psi/1h), adicionada de 100 µL do derivatizante N,O-bis(trimetilsilil)-trifluoroacetamida (BSTFA), agitadas a 600 rpm/1h/30 °C). Em seguida, adicionou-se 700 µl de hexano e agitados a 45°C/5psi/1h. Após, a mistura foi centrifugada a 10.000rpm/2min e 600 µL da fase superior foi transferida um “vial” de 2,0 mL e fechado para posterior análise em CG/EM.

Análise cromatográfica em CG/EM

As análises em cromatografia gasosa das substâncias voláteis e dos ácidos graxos foram realizadas em cromatógrafo gasoso (CG) Thermo Scientific Trace 1300 acoplado a um espectrômetro de massa (EM) Thermo Scientific MS-ISQ Single Quadrupolo com amostrador AI 1310, equipado com coluna capilar RTX-65 TG (15m x 0,25mm x 0,1µm),

utilizou-se gás Hélio como carreador a um fluxo de 1mL / min. A injeção dos extratos foi no modo *split* 1:5. O injetor operou a 250 °C. O MS-ISQ operou com interface e fonte de ionização a 280 °C, faixa de massa (40-1000 Da) e ionização eletrônica a 70 eV. As identificações das substâncias foram realizadas através da comparação dos espectros de massas com os dados do software WILEI 2009. A concentração de ácidos graxos livres (AGL) foi feita pelo cálculo da normalização da área do pico.

2.5 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Foram realizadas análises de coliformes a 45° C, *Salmonella sp.* e estafilococos coagulase positiva nos dias 1, 11 e 18. As contagens de mesófilos e psicotróficos foram realizadas nos intervalos 1, 4, 8, 11, 14 e 18. Todas as análises seguiram a metodologia descrita por Downes; Ito (2001).

2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As médias das análises foram comparadas por análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey ($p \leq 0,05$). A incerteza da previsão de dias no gelo do QI utilizou análise de regressão parcial de mínimos quadrados (PLS) e regressão linear simples. Todas as regressões foram calculadas utilizando XLSTAT para Windows, versão 2.012.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MÉTODO DO ÍNDICE DE QUALIDADE (MIQ)

Os atributos específicos considerados relevantes na avaliação do frescor e que caracterizam as alterações sensoriais da pescada-gó inteira armazenada em gelo durante o período de estocagem foram listados por consenso dos julgadores na Tab. 2.1.

Os parâmetros avaliados receberam até 3 descritores com pontos de deméritos que variaram de 0 a 2, com exceção dos parâmetros: firmeza da carne (aspecto geral), odor e condição (área anal), forma e sangue (olhos) que variaram de 0 a 1. Isto ocorreu devido à

frágil estrutura do músculo das espécies da família *Sciaenidae* e, no caso dos olhos, pela rápida modificação tornando-os planos logo após a captura.

O resultado da perda de frescor durante os dias de armazenamento, através da soma das pontuações atribuídas às mudanças graduais das características sensoriais avaliadas durante cada dia de armazenamento que deram origem ao IQ (Fig. 2.1).

Tabela 2.1. Protocolo MIQ desenvolvido para a pescada-gó estocada em gelo.

Atributos de qualidade	Parâmetros	Descrição das características	Pontos de deméritos	
ASPECTO GERAL	Aspecto superficial	Brilho intenso, pigmentação característica	0	
		Brilhante, cores mais opacas	1	
	Firmeza da carne	Pouco brilho, despigmentação	2	
		Firme, pouco elástica	0	
		Macia, presença de sinal da pressão	1	
		Nadadeiras	Muito elástica	0
	BRANQUIAS	Cor	Pouco elástica	1
			Sem elasticidade	2
			Vermelho vivo à vermelho escuro	0
		Muco	Vermelho menos vivo	1
Vermelho menos vivo a rosa			2	
Muco			Pouco muco, cor clara	0
Odor		Muco consistente, cor opaca	1	
		Muito muco, cor opaca	2	
		Algas (levemente de areia molhada)	0	
Forma		Neutro, algas menos intenso	1	
	Ligeiramente rançoso	2		
	Integra	0		
OLHOS	Globo ocular	Ligeiramente disforme	1	
		Disforme	2	
		Límpida (transparente)	0	
	Pupila	Ligeiramente opaca	1	
		Leitosa, opaca	2	
		Preta-azulada, bem delineada	0	
	Forma	Enevoadada e delineada	1	
		Enevoadada e sem delineamento	2	
		Achatada (plana)	0	
	Sangue	Afundada (côncava)	1	
Ausente		0		
Levemente sanguinolento		1		
ÁREA ANAL	Odor	Fresco (algas)	0	
		Ligeiramente rançoso	1	
	Condição	Fechado	0	
Aberto		1		

Índice de Qualidade (IQ)

A evolução do IQ para a pescada gó inteira foi altamente correlacionada com o tempo de armazenamento em gelo pela aplicação do protocolo QIM nos lotes 3 e 4 e pode ser

expressa por equações lineares $IQ = 0,767 \times \text{dias} + 8,3361$ ($R^2 = 0,9661$) e $IQ = 0,9281 \times \text{dias} + 1,3378$ ($R^2 = 0,9868$), respectivamente. O comportamento linear do IQ foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$). Os resultados obtidos para os lotes confirmaram a importância da validação do protocolo QIM através de estudos em diferentes localizações, estações do ano e formas de captura (BOGDANOVIC et al., 2012).

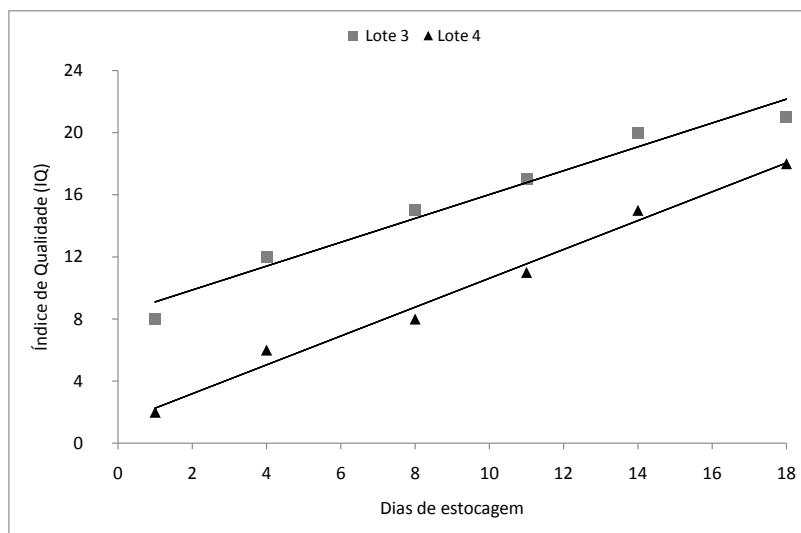


Figura 2.1. Correlação linear entre dias de armazenamento e Índice de Qualidade para pescada-gó (*Macrodon acylodon*) inteira em gelo.

A época de obtenção das amostras influenciou nos valores mais elevados de IQ obtidos para o lote 3 nos parâmetros de qualidade: aspecto superficial, nadadeiras, odor e muco das guelras, área anal e globo ocular. Isto pode ter ocorrido devido à captura desse lote (setembro) ter sido realizada após o período da desova (julho e agosto) da pescada gó. No arenque, armazenado em gelo, também pode ser observada uma deterioração mais rápida no período pós-desova (NIELSEN; HYLIDIG, 2004).

Na Fig. 2.1 também é possível observar que no primeiro dia de armazenamento, baseado nas pontuações dadas pelos julgadores treinados para os lotes 3 e 4, as amostras variaram o IQ em 8 e 2, respectivamente. Outras pesquisas como as de Sveinsdottir et al. (2003) para salmão, Gonçalves, Antas e Nunes (2007) para linguado e Billar dos Santos et al. (2014) para pescada amarela, também indicaram que o IQ não iniciou em 0 (frescor elevado) devido as rápidas alterações ocorridas após a captura. Dentre os lotes, o de número 4 foi o que apresentou o melhor estado inicial de frescor para a pescada gó.

Após 14 dias de armazenamento o lote 3 atingiu a pontuação máxima dos deméritos (IQ = 21), indicando que os julgadores rejeitaram as amostras, tornando a pescada gó imprópria para o consumo do ponto de vista sensorial. No entanto, para o lote 4, mesmo após 18 dias o IQ obtido foi de 18, somente aproximando-se da pontuação máxima do protocolo QIM desenvolvido.

De acordo com os resultados sensoriais dos lotes a vida de prateleira da pescada gó inteira foi estabelecida em 11 dias de armazenamento em gelo, próximo do encontrado por Teixeira et al. (2009) para *Micropogonias furnieri*, Gonçalves et al. (2007) para *Solea senegalensis* e Bogdanovic et al. (2012) para *Boops boops*. Além de apresentar maior tempo de vida do que o encontrado por Billar dos Santos et al. (2014) para a vida de prateleira da pescada amarela (9 dias), espécie pertencente a mesma família da pescada gó.

Na Fig. 2.2 está representado o progresso de todos os atributos de qualidade da pescada-gó durante o armazenamento em gelo somente para o lote 4, por ter sido o lote com maior correlação entre o IQ e o armazenamento.

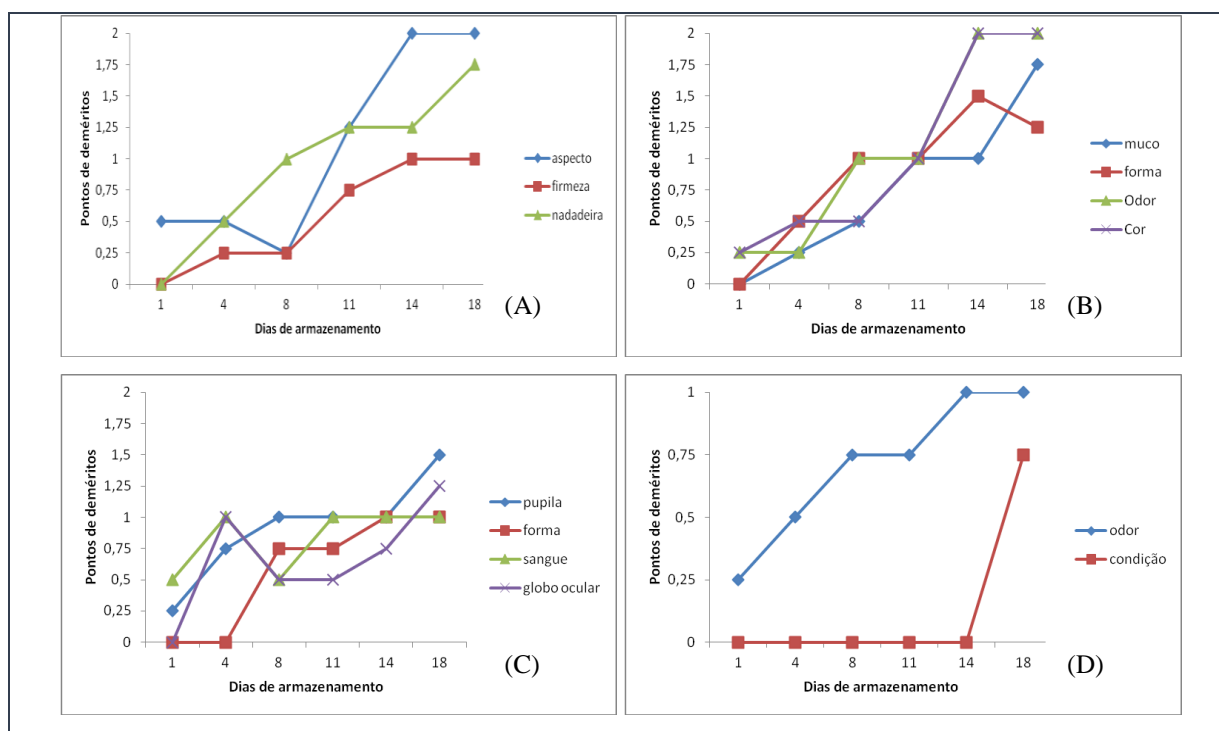


Figura 2.2. Pontuações média dos deméritos dos atributos de qualidade: (A) aparência geral; (B) brânquias; (C) olhos; (D) área anal da pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira armazenada em gelo.

Todos os parâmetros apresentaram uma tendência ascendente durante o período de armazenamento. Sendo, "aspecto superficial" (Fig. 2.2A), "firmeza da carne" (Fig. 2.2A), "cor, muco e odor das brânquias" (Fig. 2.2B) e "odor anal" (Fig. 2.2C) os parâmetros que progrediram mais rapidamente. Os parâmetros firmeza da carne, nadadeiras, odor e muco das brânquias e odor anal apresentaram uma crescente tendência linear e foram altamente correlacionados ($R > 0,90$) com o tempo de armazenamento em gelo. E os parâmetros que tiveram uma baixa linearidade foram condição anal, presença de sangue nos olhos e globo ocular, sugerindo que esses parâmetros apresentaram baixa influência no IQ.

A evolução do IQ ao longo do tempo obteve melhor correlação linear do que com os parâmetros individuais analisados, demonstrando que o protocolo MIQ desenvolvido durante o estudo da vida de prateleira da pescada gó inteira armazenada em gelo, pode ser utilizado tanto por indústrias quanto por vendedores e consumidores de peixe, devido fornecer o índice total da qualidade dessa espécie (SYKES et al., 2009).

3.2 REGRESSÃO PARCIAL DOS MÍNIMOS QUADRADOS – PLS

Para verificar a eficácia do IQ para prever o tempo de armazenamento da pescada gó em gelo, os resultados obtidos da aplicação do protocolo MIQ foram analisados por regressão PLS (Fig. 2.3).

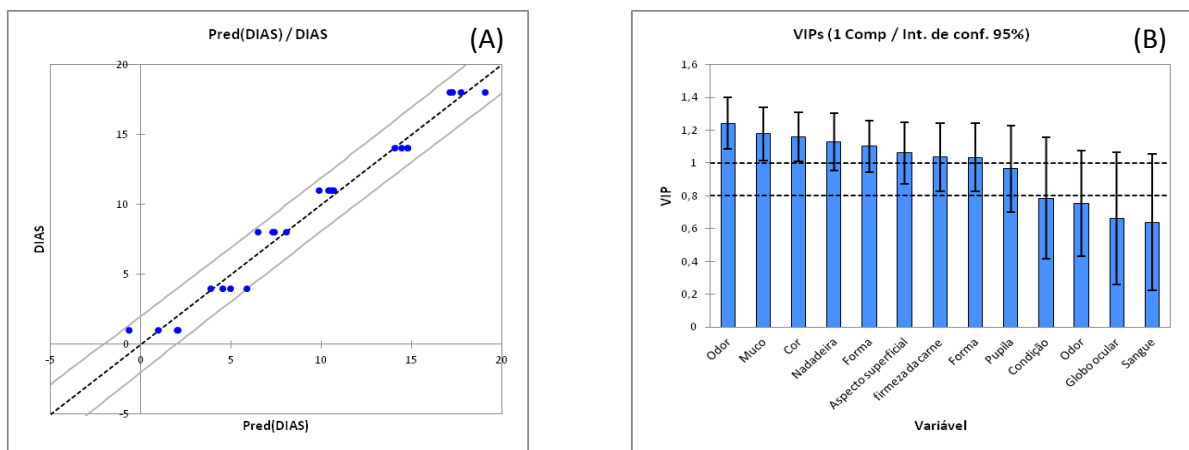


Figura 2.3. Regressão parcial dos mínimos quadrados dos parâmetros MIQ desenvolvido para pescada gó inteira armazenada em gelo.

O erro-padrão do valor de desempenho (SEP) pode ser usado para avaliar a precisão da previsibilidade do IQ. De acordo com a Fig. 2.3A, o SEP para o IQ do lote 4 resultou em 0,780, ou seja, aproximadamente 1 dia de erro no desempenho entre as observações dos julgadores para o IQ da pescada gó.

Analisando a Fig. 2.3A é possível observar que os julgadores discordaram nas suas avaliações nos primeiros dias de armazenamento (1, 4 e 8 dias), com pontuações de IQ variadas. Entretanto, nos últimos dias os valores de IQ foram mais próximos entre os julgadores, contribuindo para uma definição mais precisa quanto ao final da vida de prateleira da pescada gó.

As variáveis com maior projeção de importância (VIP) são as que apresentam valores de VIP acima de 1,0, ou seja, são consideradas as variáveis mais relevantes para o modelo estatístico utilizado (DONADONI et al., 2012). Assim, na Fig. 2.3B, os atributos de qualidade que se destacaram para o protocolo QIM foram: guelras (odor, muco, cor e forma), aspecto geral (firmeza da carne, nadadeiras e aspecto superficial) e a forma dos olhos.

3.3 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

Os resultados para a análise de coliformes a 45°C apresentaram baixa contaminação durante os 18 dias de armazenamento como uma variação de 36 – 200 NMP/g. Além disso, não foi detectada a presença de *Salmonella* spp e a contagem de Estafilococos coagulase positiva teve resultado inferior ao limite (10^3 UFC/g) previsto na legislação vigente (BRASIL, 2001) após os 18 dias de armazenamento, demonstrando a qualidade da matéria prima. Esses micro-organismos não fazem parte da microbiota normal do peixe e quando presentes podem estar associados à contaminação do local de captura, à manipulação inadequada na cadeia produtiva o que inclui o gelo, equipamentos, utensílios, etc., que tenham entrado em contato com o peixe fresco (SANTOS et al., 2008).

A legislação brasileira não determina um limite para contagem total de bactérias heterotróficas aeróbicas mesófilas e psicotróficas em pescado, porém esses micro-organismos indicam se a limpeza, a desinfecção e o controle da temperatura após a captura e durante a manipulação foram realizados de forma adequada. Entretanto, a *International Commission on Microbiological Specification for Foods* (ICMFS, 2005) recomenda o limite máximo de 7 log

UFC/g para contagem padrão de placas de aeróbios mesófilos e psicrotróficos em pescado refrigerado.

A Fig. 2.4 mostra que as contagens de bactérias psicrotróficas atingiram 7,02 log UFC/g no músculo de pescada gó inteira armazenada em gelo após 14 dias podendo ser considerada imprópria para o consumo humano. No entanto, o crescimento das bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas, após 18 dias alcançou apenas 5,7 log UFC/g, demonstrando eficiência no controle da temperatura de armazenamento. As equações lineares para as contagens de bactérias mesófilas e psicrotróficas foram expressas em $\text{Log UFC/g} = 0,1229 \times \text{dias} - 3,4642$ ($R^2 = 0,9399$) e $\text{Log UFC/g} = 0,1593 \times \text{dias} - 4,5679$ ($R^2 = 0,9747$), respectivamente.

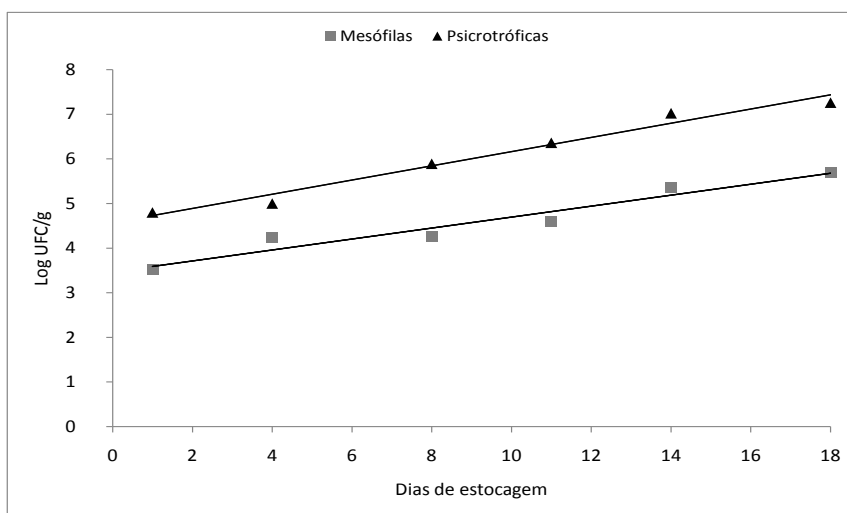


Figura 2.4. Correlações entre dias de armazenamento e as contagens de bactérias psicrotróficas e mesófilas em pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira em gelo.

Esses resultados encontrados estão de acordo com o obtido por Huss (1995), que assegurou que a deterioração de peixes, especialmente em baixas temperaturas, pode ser causada principalmente por bactérias psicrotróficas devido uma combinação de processos enzimáticos, oxidativos e microbiológicos, ocasionando diminuição da qualidade sensorial através de mudanças significativas no odor, aparência, textura e cor dos peixes. A contagem de bactérias psicrotróficas foi o parâmetro de qualidade que mais se correlacionou com a análise sensorial para estabelecer a vida de prateleira da pescada gó inteira armazenada em gelo.

3.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

A umidade, proteínas e lipídios dos peixes apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) quando foram comparados os resultados do início (1º dia) e final (18º dia) do armazenamento, mas o teor de cinzas não mostrou diferença significativa (Tab. 2.2). O conteúdo de umidade no músculo da pescada gó aumentou ao longo do armazenamento e os teores de proteína e lipídios diminuíram, indicando alterações na qualidade destes componentes, como consequência da atividade proteolítica que ocorre durante a pós-captura de peixes e da ação de enzimas endógenas bacterianas (OGAWA; MAIA, 1999). Além disto, outros processos ocorreram simultaneamente, como hidratação do músculo pela incorporação de água do derretimento de gelo e lixiviação de materiais (proteínas, gorduras, etc).

Os resultados da composição centesimal mostraram-se semelhantes a outras pesquisas realizadas com a pescada gó (LEMPEK; PRENTICE; LOPES, 2001) e também para a pescada amarela (SOUZA et al., 2008) que pertence à mesma família.

Tabela 2.2. Resultados das análises físico-químicas da pescada-gó armazenada em gelo.

Análises	Dias					
	1	4	8	11	14	18
Umidade (g/100g)	80,7 ± 0,41	-	-	-	-	81,38 ± 0,23
Proteínas (g/100g)	17,68 ± 0,18	-	-	-	-	16,65 ± 0,03
Cinzas (g/100g)	1,00 ± 0,20	-	-	-	-	0,97 ± 0,15
Lipídios (g/100g)	1,97 ± 0,37	-	-	-	-	1,00 ± 0,10
pH	6,80 ± 0,20	6,94 ± 0,30	7,06 ± 0,20	7,11 ± 0,15	7,35 ± 0,34	7,48 ± 0,23
Textura (N)	11,73±0,33	11,88±0,34	11,35±0,40	11,38±0,40	11,14 ±0,45	11,01 ±0,48

Os valores de pH apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) durante o período de armazenamento, com exceção do 8º e 11º dias, alcançado o valor de 7,48 no último dia de armazenamento. Os valores de pH tendem a aumentar com a estocagem, devido ao acúmulo de N-BVT, formado a partir de atividades autolíticas e bacterianas (GONÇALVES et al., 2015). A pescada gó somente se manteve dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira (BRASIL, 2001) para o pH (6,5-6,8), no início do armazenamento.

A análise de firmeza da carne (consistência do músculo) também não apresentou diferença significativa ($p \geq 0,05$) entre durante os 18 dias de armazenamento em gelo (Tab. 2.2).

Observou-se na Tab. 2.3 que o perfil químico dos ácidos graxos da pescada gó foram quantificados os ácidos mirístico (C14:0), palmitoléico (C16:1 ω -7) e palmítico (C14:0).

O ácido palmítico é normalmente detectado em elevadas quantidades em diversas espécies marinhas, com variação de 10,6 a 23,7% (GUIL-GUERRERO et al., 2011). também tem a possibilidade de alongação da cadeia até o ácido esteárico (C18), tornando possível a síntese de outros ácidos graxos insaturados importantes para a alimentação (CALDER, 1998).

Tabela 2.3. Perfil químico de marcadores de qualidade da pescada-gó em gelo.

Ácidos graxos (g/100g)	Dias					
	1	4	8	11	14	18
Ac. Mirístico (C14:0)	1,33	0,78	0,58	1,45	0,88	1,49
Ac. palmítico (C16:0)	13,37	9,02	8,51	10,82	11,02	12,06
Ác. Esteárico (C18:0)	nd	3,26	3,37	3,28	nd	3,64
Ac. Palmitoléico (C16:1 n-7)	6,3	10,89	8,8	7,22	6,42	6,38
Ac. Oléico (C18:1 ω -9)	26,97	23,79	22,1	16,48	9,48	14,9
Ac. Araquidônico (C20:4 ω -6)	9,19	3,12	8,96	1,35	1,09	2,40
Substâncias orgânicas voláteis(%)						
Tolueno	9,92	-	14,77	-	-	30,68
Etilbenzeno	3,03	-	4,84	-	-	8,87
xileno	19,90	-	34	-	-	60,43
Alcano totais	67,14	-	46,4	-	-	-
Aminas biogênicas (mg/kg)						
Putrescina	3,28	13,74	24,41	65,84	409,97	-
Cadaverina	-	15,22	-	-	55,54	-
Espermidina	-	0,69	-	-	1,71	-

Notou-se também que a presença de grande proporção de ácidos graxos C18 e C20 distribuídos em ácidos graxos monoinsaturados e poli-insaturados. Os ácidos oléico e araquidônico foram os que mais diminuíram seus teores durante o tempo de armazenamento, demonstrando que a deterioração está ligada a alteração das características sensoriais, proveniente do processo oxidativo que os ácidos graxos poli-insaturados sofrem durante a degradação da fração lipídica, originando compostos de detecção marcante e corroborando com os sinais da perda de qualidade da pescada gó durante sua vida de prateleira.

As substâncias orgânicas voláteis, como benzeno, tolueno, xileno e alcanos, são hidrocarbonetos do petróleo encontrados em sistemas marinhos e costeiros, que podem ter procedência de descargas ilegais de tanques de navios e efluentes industriais, dentre outras fontes (TIBURTIUS et al., 2004; STEVENS et al., 2012). Esses voláteis encontrados na pescada gó evidenciam que a espécie acumulou compostos tóxicos derivados do petróleo provenientes dos sedimentos encontrados em zona de águas costeiras onde é o habitat dessa espécie. A proximidade dessa área ao Rio Pará, onde ocorre intenso fluxo de navios e balsas, pode resultar em eventuais acidentes de derramamento de óleo e outros produtos químicos (MANGAS et al., 2014).

A exposição de peixes a esses hidrocarbonetos podem gerar danos estruturais e funcionais no organismo, devido à bioacumulação nos tecidos desses animais pela natureza lipofílica dos compostos (TIBURTIUS et al., 2004). A presença crescente dessas substâncias voláteis na pescada gó, provavelmente, ocorre devido à liberação desses compostos durante a deterioração, enfatizando a necessidade crescente de se conhecer diferentes biomarcadores que sejam efetivos na avaliação da qualidade de peixes e de possíveis impactos ambientais.

A determinação de aminas em alguns peixes pode ser utilizada como um bom marcador de toxicidade, pois algumas aminas podem potencializar a histamina (KRIZEK et al., 2002). Na Tab. 2.3, observa-se que a putrescina foi a amina que apresentou teores mais elevados durante os 14 dias de armazenamento em gelo da pescada gó. A espermidina e cadaverina foram encontradas apenas no 4º e 14º dia. Observa-se que as aminas biogênicas quantificadas (putrescina, cadaverina e espermidina) apresentaram tendência em aumentar as concentrações em função do tempo de armazenamento devido serem provenientes da degradação dos aminoácidos arginina, lisina e metionina, respectivamente.

Segundo Krizek et al. (2002) valores inferiores a 10 mg/kg para putrescina indicam carne de boa qualidade para carpas e, acima 20 mg/kg, são considerados peixes com baixa qualidade. Comparando estes dados com os valores encontrados na presente pesquisa, o músculo de pescada gó apresentou perda de qualidade acentuada a partir do 8º dia de armazenamento. No entanto, o ponto de rejeição estabelecido pelos julgadores durante aplicação do MIQ foi notado após o 11º dia, demonstrando que apesar do alto valor obtido para a putrescina, essa amina não foi facilmente perceptível pela característica sensorial do odor pútrido.

A cadaverina foi detectada no quarto dia de armazenamento apresentando um valor superior ao limite observado por Ozyurt et al. (2009) de 10,8 mg/kg para *Red mullet* e 13,3 mg/kg para *Goldband goatfish* após 11 dias de armazenamento em gelo. A presença da espermidina não representou um fato negativo para a qualidade devido ser uma amina que existe naturalmente nos tecidos animais.

Os resultados encontrados para N-BVT e TBARS da pescada gó inteira durante 18 dias de armazenamento em gelo, apresentaram boa correlação linear durante o estudo de vida de prateleira. As equações lineares foram expressas em TBARS (mgMDA/Kg) = 0,0034 x dias + 0,2253 ($R^2 = 0,8849$) e N-BVT (mgN/100g) = 0,9577 x dias - 8,0379 ($R^2 = 0,8488$), respectivamente (Fig. 2.5).

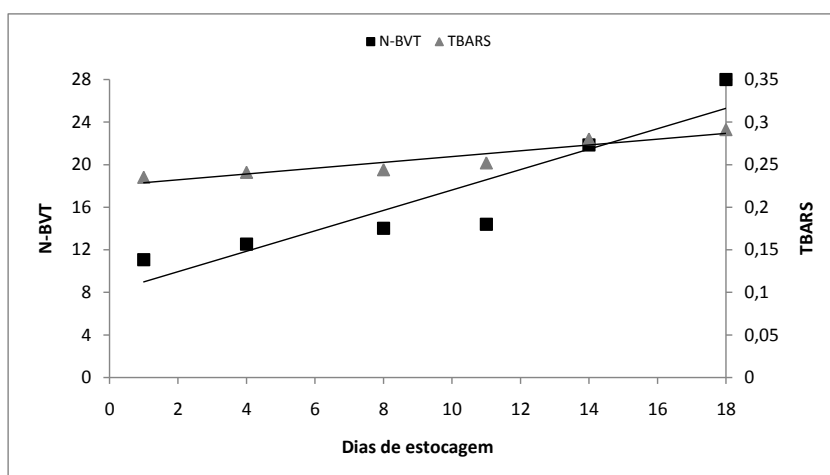


Figura 2.5. Correlação entre as alterações químicas de N-BVT e TBARS para a pescada gó inteira durante armazenamento em gelo.

Os valores de TBARS encontrados no presente estudo são considerados baixos, devido a pescada-gó apresentar reduzido teor de lipídeos no músculo, no entanto, a progressiva oxidação dos lipídeos com o tempo de estocagem favoreceu o acréscimo de malonaldeído de 0,235 para 0,291 mgMDA/Kg após 18 dias de armazenamento, apresentando diferença significativa ($p \leq 0,05$) somente após o 11º dia de armazenamento. Bogdanovic et al. (2012) ao realizar estudos da vida de prateleira de sardinha (*Sardine pilchardus*) e bogue (*Boops boops*) sugere os valores limites de 5 a 8 mgMDA/kg para aceitação sensorial de peixes. As amostras da pescada gó mantiveram-se muito abaixo deste limite durante o armazenamento.

Os valores de N-BVT apresentaram tendência crescente, variando de 11,06 mg N/100 g (1º dia) a 28,4 mg N/100 g no final do armazenamento manteve-se dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira de 30 mg N/100 g (BRASIL, 1997) e 35 mg N/100 g pela Comunidade Europeia (CE, 1995). Nos primeiros dias de armazenamento não foi observada diferença significativa ($p \geq 0,05$), somente após o 14º dia. Esses resultados estão de acordo com o observado no estudo de vida útil da *Cynoscion acoupa* (BILLAR DOS SANTOS et al., 2014) e *Boops boops* (BOGDANOVIC et al., 2012). O valor N-BVT não é considerado um bom indicador de frescor e é pouco confiável para diversas espécies, devido não ser correlacionado linearmente com a deterioração durante o armazenamento em gelo, principalmente nos 10 primeiros dias (HUSS, 1995; OLAFSDOTTIR et al., 1997). Além disso, existem relatos de estudos que indicam a lixiviação desses compostos como um fator importante que reduz a eficiência dos resultados de N-BVT na avaliação do frescor (LAPA-GUIMARÃES et al., 2005; BILLAR DOS SANTOS et al., 2014).

4. CONCLUSÃO

O Método de Índice de Qualidade (MIQ) desenvolvido para a pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira armazenada em gelo representa uma ferramenta confiável para avaliar o frescor deste peixe. O método mostrou alta correlação linear entre o IQ e o tempo de estocagem em gelo para os lotes 3 ($IQ = 0,767 \times \text{dias} + 8,3361$; $R^2 = 0,9661$) e lote 4 ($IQ = 0,9281 \times \text{dias} + 1,3378$; $R^2 = 0,9868$) sendo possível prever quanto tempo a pescada-gó mantém-se fresca e aceitável para o consumo. Os perfis químicos dos marcadores de qualidade obtidos durante a estocagem indicaram perda de qualidade e valor nutricional devido o aumento das amins putrescina, cadaverina e espemidina; aumento de substâncias voláteis tóxicas; e diminuição dos ácidos oleico e araquidônico. Dessa forma, conclui-se que, baseado na correlação dos métodos considerados bons indicadores de frescor e qualidade, a pescada gó conservada em gelo mantém estabilidade comercial durante 11 dias.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S. C. S.; MÁRSICO, E. T.; FRANCO, R. M.; GODOY, R. L. O.; PACHECO, S.; QUEIROZ, M. F. Shelf life of chilled and whole sardines evaluated by physical-chemical, bacteriological and sensory analyses. **Ciência Rural**, v. 42, p. 1901 – 1907, 2012.
- AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. (17th ed.). Gaithersburg, Maryland, USA: AOAC, 2000.
- BARBOSA, A.; VAZ-PIRES, P. Quality index method (QIM): development of a sensorial scheme for common octopus (*Octopus vulgaris*). **Food Control**, v. 15, p. 161 - 168, 2004.
- BILLAR DOS SANTOS, A. P.; KUSHIDA, M. M.; VIEGAS, E. M. M.; LAPA-GUIMARÃES, J. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for Acoupa weakfish (*Cynoscion acoupa*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 267 – 275, 2014.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911–917, 1959.
- BOGDANOVIC, T.; SIMAT, V.; FRKA-ROIC, A.; MARKOVIC, K. Development and application of Quality Index Method scheme in a shelf-Life study of wild and fish farm affected bogue (*Boops boops*, L.). **Journal of Food Science**, v. 77, n. 2, p. 99-106, 2012.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº1, de 07 de outubro de 1981. Aprova os Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**. Brasília, 13 de outubro de 1981. Seção XI.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 de janeiro de 2001. Seção 1, p. 45.
- BREMNER, H. A. A convenient, easy to use system for estimating the quality of chilled seafoods. **Fish Processing Bulletin**, v. 7, p. 59 – 70, 1985.
- CALDER, P. C. Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. **Brazilian Journal of Medicine Biological Research**, v. 31 (4), 1998.
- DONADONI, G.; FUMI, M. D.; VANONI, L.; PORRETTA, S. Hedonic responses to cheese in preschoolers. **Journal of Sensory Studies**, v. 27, p. 176–187, 2012.
- DOWNES, F.P; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological**. Examinations of Foods. 4th. ed. Washington (DC): APHA, 2001.
- GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. Ed. Atheneu Rio, Rio de Janeiro, 2011.

GONÇALVES, A. A.; LIMA, J. T. A. X.; PAULA, F. E. R. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for spiny lobster (*Panulirus argus*, Latreille, 1804) stored in ice. **Food Control**, v. 47, p. 237-245, 2015.

GONÇALVES, A. C.; ANTAS, S. E.; NUNES, M. L. Freshness and Quality Criteria of Iced Farmed Senegalese Sole (*Solea senegalensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 3452-3461, 2007.

GUIL-GUERRERO, J.L.; VENEGAS-VENEGAS, E.; RINCON-CERVERA, M.A.; SUAREZ, M.D. Fatty acid profiles of livers from selected marine fish species. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, p. 217-222, 2011.

HUSS, H. H. Quality and quality changes in fresh fish. **FAO** (Food and Agriculture Organization of the United Nations) **Fisheries Technical Paper**, Rome, 195 p., 1995.

ICMSF. Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodity**. 2nd. ed. New York: Kluwer Academic, 2005.

KRIZEK, M.; PAVLICEK, T.; VACHA, F. Formation of selected biogenic amines in carp meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1083–1093, 2002.

LAPA-GUIMARÃES, J.; DE FELÍCIO, P. E.; CONTRERAS GUZMÁN, E. S. Chemical and microbial analyses of squid muscle (*Loligo plei*) during storage in ice. **Food Chemistry**, v. 91, p. 477 – 483, 2005.

LEMPEK, T. S.; PRENTICE, C.; LOPES, M. L. Efeito do vácuo na qualidade da pescada-foguete (*Macrondon ancyledon*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 1, p. 64–67, 2001.

MANGAS, A. P.; SILVA, A. C.; FERREIRA, S. C. G.; PALHETA, G. D. A.; MELLO, N. F. C. A. Ictioplâncton da baía do Guajará e do estuário do rio Pará, ilha do Marajó, Pará, Brasil. **Boletim Técnico Científico do CEPNOR**, v. 13, n. 1, p. 43 – 54, 2013.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Informações e Estatísticas. Estatística da Pesca e Aquicultura. **Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura 2010**. Brasil, Brasília, 2012. 128 p.

NIELSEN, D.; GREEN, D. Developing a Quality Index grading tool for hybrid striped bass (*Morone saxatilis x Morone chrysops*) based on the Quality Index Method. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, n. 1, p. 86-94, 2007.

NIELSEN, D.; HYLDIG, G. Influence of handling procedures and biological factors on the QIM evaluation of whole herring (*Clupea harengus L.*). **Food Research International**, v. 37, p. 975–983, 2004.

OGAWA, M.; MAIA, E. L. **Manual de pesca: Ciência e Tecnologia do Pescado**. v. 1. 430p. São Paulo: Livraria Varela, 1999.

OLAFSDOTTIR, G.; MARTINSDOTTIR, E.; OEHLENSCHLAGER, J.; DALGAARD, P.; JENSEN, B.; UNDERLAND, I.; MACKIE, I. M.; HENEHAN, G.; NIELSEN, J.; NIELSEN,

H. (1997). Methods to determine the freshness of fish in research and industry. **Trends Food Science and Technology**, v. 8, p. 258–265, 1997.

OZYURT, G.; KULEY, E.; OZKUTUK, S.; OZOGUL, F. Sensory, microbiological and chemical assessment of the freshness of red mullet (*Mullus barbatus*) and goldband goatfish (*Upeneus moluccensis*) during storage in ice. **Food Chemistry**, v. 114, p. 505 – 510, 2009.

SANT'ANA, L. S.; SOARES, S.; VAZ-PIRES, P. Development of a quality index method (QIM) sensory scheme and study of shelf-life of ice-stored blackspot seabream (*Pagellus bogaraveo*). **Food Science and Technology**, v. 44, p. 2253-2259, 2011.

SANTOS, T. M.; MARTINS, R. T.; SANTOS, W. L. M.; MARTINS, N. E. Inspeção visual e avaliações bacteriológica e físico-química da carne de piramutaba (*Brachyplatistoma vaillanti*) congelada. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 1538-1545, 2008.

SIGURGISLADOTTIR, S.; HAFSTEINSSON, H.; JONSSON, A.; LIE, O.; NORTVEDT, R.; THOMASSEN, M.; TORRISSEN, O. Textural properties of raw salmon fillets as related to sampling method. **Journal of Food Science**, v. 64, n. 1, p. 99-104, 1999.

SOUZA, H. A. L.; BENTES, A. S.; SIMÕES, M. G.; FONTELLES, M. J. P. Physical and nutritional characterization and lipid profile of three amazon fish species. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, v. 4, n. 2, p. 141 – 152, 2008.

STEVENS, T.; BODEN, A.; ARTHUR, J.M.; SCHLACHER, T.A.; RISSIK, T.; ATKINSON, S. Initial effects of a moderate-sized oil spill on benthic assemblage structure of a subtropical rocky shore. **Estuarine Coast Shelf Science**, v. 109, p. 107–115, 2012.

SVEINSDOTTIR, K.; HYLDIG, G.; MARTINSDÓTTIR, E. Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 237-245, 2003.

SYKES, A. V.; OLIVEIRA, A. R.; DOMINGUES, P. M.; CARDOSO, C. M.; ANDRADE, J. P.; NUNES, M. L. Assessment of European cuttlefish (*Sepia officinalis*, L.) nutritional value and freshness under ice storage using a developed Quality Index Method (QIM) and biochemical methods, **LWT - Food Science and Technology**, v. 42, p. 424-432, 2009.

TEIXEIRA, M. S.; BORGES, A.; FRANCO, R. M.; SÃO CLEMENTE, S. C.; FREITAS, M. Q. Método de índice de qualidade (QIM): desenvolvimento de um protocolo sensorial para corvina (*Micropogonias furnieri*). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 16, n. 2, p. 83-88, 2009.

TIBURTIUS, E. R. L.; PERALTA-ZAMORA, P.; LEAL, E. S. Contamination of waters by BTXs and processes used in the remediation of contaminated sites. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 441–446, 2004.

VAZ-PIRES, P.; SEIXAS, P. Development of new quality index method (QIM) schemes for cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*). **Food Control**, v. 17, p. 942–949, 2006.

VYNCKE, B.W. Direct determination of the thiobarbituric acid value in trichloroacetic acid extracts of fish as a measure of oxidative rancidity. **Fette, Seifen, Anstrichmittel**, v. 72, n. 12, p. 1084-1087, 1970.

CAPÍTULO III

ESTUDO DA MICROBIOTA INTESTINAL DA PESCADINHA-REAL (*Macrodon ancylodon*)

RESUMO

A pescadinha-real (*Macrodon ancylodon*) possui ampla distribuição geográfica na América do Sul e boa perspectiva econômica na pesca extrativa no Brasil. O objetivo deste trabalho foi identificar a flora intestinal e as bactérias que se desenvolvem durante o armazenamento. Desta espécie foi realizada a caracterização microbiológica das amostras e a identificação da microbiota, através do isolamento em meios de cultura e uso de kit's da BD BBL para Enterobactérias (gram-negativas) e bactérias Gram-positivas. O crescimento das cepas isoladas foi testado a 3 °C como limitante do crescimento de bactérias patogênicas e a 7 °C como temperatura de armazenamento doméstico. Todas as amostras de pescadinha-real estavam dentro do estabelecido pela legislação brasileira quanto ao padrão microbiológico. Vinte cepas isoladas da microbiota intestinal da pescadinha-real (*M. ancylodon*) foram identificadas, cinco se destacaram e podem desempenhar um papel na segurança e/ou vida de prateleira: *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens* e *Corynebacterium* sp.. Dessas espécies, apenas as duas primeiras, consideradas deterioradoras, tiveram crescimento significativo após três dias de armazenamento a 3 °C. A espécie *B. cepacia* além de ser uma bactéria deterioradora, também é avaliada como um patógeno oportunista.

Palavras-chaves: Pescadinha-real, intestinal, oportunista, qualidade, vida de prateleira.

1. INTRODUÇÃO

A pescada-gó ou pescadinha-real (*Macrodon ancylodon*) é uma das espécies de importância no cenário nacional e na costa Norte do Brasil, tanto pelo volume capturado quanto pelo consumo da população local. A espécie *M. ancylodon* pertence à família *Sciaenidae* e pode ser encontrada em ampla distribuição geográfica da América do Sul, desde as águas tropicais da Venezuela até as subtropicais da Argentina, atingindo em média 40 cm de comprimento, peso menor que 1 kg, alimentando-se de camarões, peixes e lulas (SANTOS et al., 2003).

O peixe pode ser depositário de um grande número de micro-organismos patogênicos para o homem, proveniente da contaminação ambiental, mas também da manipulação indevida desde a sua captura até o consumo final. Devido à sua elevada perecibilidade, deve ser conservado a temperaturas baixas e ser manipulado em condições sanitárias adequadas durante toda a cadeia de produção de modo que possa ser ofertado um produto seguro para o consumidor (MOL; TOSUN, 2011). Além disso, é importante ressaltar que, em temperaturas abaixo de 4,4 °C a maioria das bactérias patogênicas não apresentam crescimento (JAY, 2005).

A manipulação inadequada causa uma perda significativa pós-captura dos peixes capturados e cultivados, sendo os micro-organismos os que mais contribuem. Devido ser extremamente perecível, os peixes perdem o frescor inicial devido a reações enzimáticas e químicas, seguida da perda total da qualidade pela atividade microbiana que ocorre principalmente na pele, nas brânquias e no intestino (GRAM; DALGAARD, 2002).

Durante o processamento de peixes os micro-organismos presentes no intestino e sobre a pele podem contaminar o músculo, os utensílios e equipamentos, favorecendo a contaminação cruzada, além da transmissão de doenças de origem alimentar por manipulação e armazenamento inadequado (JAY, 2005). A identificação das espécies microbianas que contribuem para a deterioração e que estão envolvidas na perda da qualidade de peixes é necessária a fim de utilizar métodos adequados para o controle da qualidade.

A quantidade total de micro-organismos no trato gastrointestinal de peixes é pequena em comparação com os animais de sangue quente e podem variar com a idade, alimentação e condições ambientais (NAYAK, 2010). Os principais grupos microbianos que colonizam o trato de peixes de águas temperadas e que variam com a espécie são predominantemente as

bactérias Gram-negativas psicotróficas aeróbias, anaeróbias ou facultativas, em particular: *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*, *Cytophaga*, *Vibrio*, *Corynebacterium*, *Photobacterium* e *Alteromonas* (GRAM; HUSS, 1996; ICMSF, 2005). Algumas Gram-positivas como as bactérias produtoras de ácido láctico, *Bacillus sp.* e *Staphylococcus sp* (LALITHA; SURENDRAN, 2006). No entanto, somente uma pequena fração de peixes dessa microbiota é responsável pela deterioração, conhecida como "organismos de deterioração específica" ou SSO's (GRAM; DALGAARD, 2002).

Atualmente, não existem dados disponíveis na literatura sobre a microbiota intestinal da pescadinha-real (*Macrodon ancylodon*) e poucas pesquisas existem sobre a sua qualidade microbiológica. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi identificar a população da microflora intestinal, caracterizar a qualidade microbiológica dessa espécie, além de estudar a temperatura de crescimento da microbiota durante a estocagem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRAS

As amostras de pescadinha-real inteiras foram capturadas em alto-mar a 70 km do município de Salinópolis situado no estado do Pará, e coletadas após o desembarque na Indústria de Pesca. Foram obtidas amostras compostas por 4 peixes em quatro períodos distintos dos meses de maio e junho de 2014, que são os meses de maior produção anual da espécie. As amostras foram acondicionadas em embalagem de polietileno transportadas em caixa térmica com gelo até o laboratório de Microbiologia de Alimentos (Universidade Federal do Pará - UFPA), para a realização das análises.

2.2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS

Foram retirados assepticamente vinte e cinco gramas das amostras (parte ventral do filé), em cada período de coleta. As amostras foram transferidas para embalagem estéril, adicionadas de 225 ml de água peptonada salina estéril e homogeneizada (Stomacher 400 circulador SEWARD) a 2.300 rpm durante 30s. A contagem total de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas e aeróbias psicotróficas foram determinadas usando a contagem padrão

em placas contendo *Plate Count Agar* seguido de incubação a 36 °C durante 48 h e 7 °C durante 10 dias. Análises de coliformes a 45° C, *Salmonella sp.* e estafilococos coagulase positivo também foram realizadas. Todas as análises seguiram metodologia descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (DOWNES; ITO, 2001).

2.3 MICROBIOTA INTESTINAL

Isolamento bacteriano

Foi extraído o material fecal e das paredes internas do intestino da pescadinha-real utilizando alça estéril. Em seguida, todo o material foi homogeneizado com 10 mL de água salina peptonada estéril. Esse procedimento foi realizado de forma asséptica.

Para identificação da microbiota intestinal da pescadinha-real, foram inoculados alíquotas 0,1 mL do material homogeneizado sobre a superfície usando dois tipos de meios o agar *Violet Red Bile Glucose* (VRBG) para estirpes de enterobacérias e agar *Baird-Parker* para bactérias gram-positivas, sendo ambas incubadas a 36 °C/ 48 h. Uma placa de cada meio foi selecionada e 5 a 8 colônias foram escolhidas aleatoriamente. As colônias selecionadas foram estriadas para obter culturas puras em meios semelhantes ao de origem (VRBG ou Agar Baird-Parker). Após incubação a 36 °C/ 48 h, as colônias foram transferidas para tubos com caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) contendo 10% de glicerol e armazenada congeladas para utilizar na identificação.

Identificação das estirpes bacteriana

As colônias isoladas foram analisadas através da reação de Gram, morfologia (microscopia), reação de oxidase e indol. Em seguida, as cepas foram identificadas com kit's reconhecidos mundialmente da BD BBL Crystal utilizando o Enteric/Nonfermenter ID System para as Gram-negativas e o Gram-positive ID System para as Gram-positivas. Todo o procedimento foi realizado em conformidade com a metodologia recomendada pelo fabricante.

2.4 TEMPERATURA LIMITE PARA CRESCIMENTO DA MICROBIOTA INTESTINAL

A metodologia utilizada foi adaptada de Damasceno et al. (2015) onde através da densidade óptica verificaram-se quais cepas se desenvolviam em diferentes temperaturas de armazenamento. As estirpes bacterianas previamente identificadas e congeladas em caldo BHI, foram reativadas na proporção de 1:10 mL do meio durante 24 h a 36 °C. Logo após, 0,6 mL dos isolados identificados foram transferidos para tubos contendo 9 mL de BHI e incubados a temperatura de 7 °C (refrigerador convencional) e 3 °C (temperatura abaixo do limite para crescimento de patógenos) durante 56 e 80 horas, respectivamente. As leituras espectrofotométricas foram realizadas nos intervalos de 4 em 4 horas no Espectrofotômetro de UV (Modelo Nova 2000) em comprimentos de onda diferenciados, determinados com base na maior absorvância obtida para cada espécie identificada após varredura do espectro em UV visível (200 – 800 nm).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a caracterização da qualidade microbiológica entre as amostras dos períodos e a temperatura limite do crescimento dos micro-organismos identificados foi realizada a análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey ao nível de 5%, utilizando o software *Statistic* 8.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA

Todas as amostras estavam dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira para peixe fresco, demonstrando a boa qualidade das amostras coletadas nos quatro períodos dos meses de Maio e Junho. Esse padrão foi baseado na ausência de *Salmonella* spp. em 25 gramas de amostra e resultado inferior ao limite 10^3 para Estafilococos coagulase positiva nas amostras de pescadinha-real (BRASIL, 2001). Os resultados das análises complementares para caracterizar a qualidade microbiológica das amostras estão apresentados na Tab. 3.1.

Os coliformes totais e termotolerantes são usados como indicadores de qualidade, já que os peixes não possuem esses micro-organismos na microflora, particularmente *E. coli* e coliformes fecais, e a presença desses refletem o grau de contaminação microbiana que o alimento foi exposto (ICMSF, 1986). Os resultados obtidos para a análise de coliformes a 45°C mostram que as amostras de pescadinha-real apresentaram baixa contaminação durante o período de coleta.

Na análise de contagem padrão em placas de aeróbios mesófilos e psicrotróficos todas as amostras apresentaram valor total abaixo do estabelecido pela *International Commission on Microbiological Specification for Foods* (ICMSF, 2005), que recomenda o limite máximo de 7 log UFC/g para pescado refrigerado.

Tabela 3.1. Resultados de mesófilas, psicrotróficas e coliformes a 45 °C da pescadinha-real.

Análises	Coletas			
	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Mesófilas (Log UFC/g)	3,58 ^{cd}	3,53 ^{bd}	3,42 ^{bc}	3,83 ^a
Psicrotróficas (Log UFC/g)	4,55 ^c	4,79 ^b	5,22 ^a	5,4 ^a
Coliformes a 45°C (NMP/g)	75 ^b	3,6 ^c	3,6 ^c	150 ^a

*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$).

As contagens de bactérias psicrotróficas apresentaram valores acima do obtido por Thong Thi et al. (2013) para a espécie *Pangasius hypophthalmus* que teve resultado de 4,3 log UFC /g. Além disso, foi observado uma contagem maior desse grupo de micro-organismo do que para as mesófilas, indicando que o armazenamento da pescadinha-real em condições de temperatura até 4°C favorece o crescimento dos micro-organismos deterioradores (JAY, 2005).

3.2 IDENTIFICAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL

Na Tab. 3.2 estão as bactérias identificadas da microbiota intestinal da pescadinha-real. Foram avaliadas 20 cepas isoladas utilizando-se kit's de identificação bacteriana, sendo 90% (18 cepas) Gram-negativas e 10% (2 cepas) Gram-positivas. No entanto, cinco não foram identificadas pelos padrões estabelecidos, pelos kit's e uso do software do fabricante.

As evidências indicam que a microflora gastrointestinal de peixes é altamente variável e são um reflexo do ambiente aquático e alimentação de cada peixe (AL-HARBI;

UDDIN 2004). A flora da maioria dos peixes é dominada por espécies gram-negativas psicrotróficas, no entanto, em peixes tropicais muitas vezes a carga bacteriana é um pouco maior de bactérias gram-positivas e entéricas do que em espécies de águas temperadas (GRAM; HUSS, 1996). As estirpes Gram-positivas, tais como *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. e *Bacillus* spp. foram isoladas a partir de peixes marinhos tropicais, mas pouca informação tem sido relatada sobre a identidade ou fontes específicas destas bactérias (AL BULUSHI et al., 2010).

Tabela 3.2. Identificação das bactérias isoladas da microbiota intestinal da pescadinha-real e sua frequência (%).

Bactérias isoladas	Cepas (%)	ID (%)
<i>Staphylococcus cohnii</i> spp. <i>urealyticum</i>	6,67	99,99
<i>Burkholderia cepacia</i>	26,67	97,22
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	46,67	91,24
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	13,33	62,66
<i>Corynebacterium</i> sp.	6,67	91,33

% ID indica a similaridade perfil dos isolados com os padrões estabelecidos pelos kits, de acordo com o fabricante.

A maioria das bactérias identificadas pela técnica utilizada indica alta similaridade de (acima de 90%), demonstrando segurança na identificação dos micro-organismos presentes na microflora. De forma geral, as cepas identificadas no intestino da pescadinha-real são consideradas bactérias deteriorantes e podem ter ligação direta na segurança e/ou vida de prateleira dessa espécie de peixe.

Os estafilococos não fazem parte da microbiota normal do peixe (VAN DEN BROEK et al., 1984), sendo os estafilococos coagulase negativa, geralmente, encontrados em amostras de origem humana nas membranas das mucosas e pele (PIETTE; VERSCHRAEGEN, 2009). A *Staphylococcus cohnii* subsp. *Urealyticum* isolada do intestino da pescadinha-real é classificada como um estafilococo coagulase-negativo tem características de formar grandes colônias e capacidade de produzir aerobicamente ácido a partir de lactose (TAMMY; BANNERMAN, 1996). E por não fazer parte da microbiota normal de peixes, essa bactéria representou apenas 6,67% das cepas identificadas na pescadinha-real. A maioria das espécies de estafilococos é inofensiva, mas algumas espécies deste gênero causam várias doenças, ao produzir enzimas e toxinas, como exemplo a *S. cohnii* que possui um gene produtor de enterotoxina (ZELL et al., 2008).

Estudos que caracterizam a microflora de alimentos *in natura* e produtos são importantes para avaliar a segurança, deterioração e influência desses micro-organismos nas características sensoriais. Em pesquisa realizada em bacalhau salgado e salgado seco, foram identificadas bactérias gram-positivas, como *S. cohnii* e estirpes gram-negativas como a *Pseudomonas fluorescens*, que é considerada uma bactéria que está relacionada com a deterioração de alimentos, principalmente, o conservado em baixas temperaturas, devido sua capacidade de produzir H₂S e/ou aminas biogênicas (RODRIGUES et al., 2003). Nesta pesquisa, a *P. fluorescens* representou 46,67% do total das bactérias isoladas na microbiota intestinal da pescadinha-real (Tab. 3.2).

A *P. fluorescens* também é agente patogênico da aquicultura contaminando muitas espécies de peixes através da produção de enzimas extracelulares, ocasionando doenças da pele, que pode ocorrer, principalmente, em peixes feridos durante o manuseio e transporte inadequado. No entanto, os mecanismos dessa virulência e de outras do *P. fluorescens* permanecem pouco elucidados (ZHANG et al., 2009).

Ao longo da última década, algumas bactérias Gram-negativas não fermentadoras têm emergido como importantes agentes patogênicos tanto em peixes quanto em humanos (ENOCH et al., 2007). Na presente pesquisa, mais duas bactérias gram-negativas, a *Burkholderia cepacia* que representou 26,67% e a *Pseudomona stutzeri* com 13,33%, foram identificadas na microbiota intestinal da pescadinha-real. A *B. cepacia* é bem reconhecida como patógeno de infecções hospitalares (ENOCH et al., 2007) devido resistência a muitos agentes antimicrobianos (SPENCER, 1995).

Miranda e Zelmeman (2002) observaram a resistência de bactérias gram-negativas pelo uso de antibiótico na prevenção e controle de patógenos bacterianos durante a criação de salmão. Os autores avaliaram a presença de estirpes isoladas da água, alimentação e alevinos, onde a espécie mais prevalente foi a *P. fluorescens* e, outras bactérias gram-negativas também foram resistentes, incluindo *Pseudomonas aeruginosa*, *S. maltophilia*, *B. cepacia* e *Acinetobacter*. Esse fator tem sido extensivamente explicado sobre a baixa permeabilidade da membrana externa dessas cepas que expõem uma ampla gama de compostos antimicrobianos (antibióticos, corantes e solventes orgânicos) (HANCOCK, 1998).

A *Pseudomonas stutzeri* também é um organismo conhecido por sua diversidade metabólica e está amplamente distribuída em ambientes naturais, muito isolada de solos contaminados e águas residuais (LALUCAT et al., 2006). Em estudo de mais de 100 bactérias

isoladas do trato intestinal de peixes do Paquistão, a bactéria marinha *P. stutzeri* obtida do trato intestinal do peixe ribbon (*Desmodema spp.*), apresentou atividade antimicrobiana contra várias espécies de bactérias, incluindo resistência (antibiótico) ao *Staphylococcus aureus* (LALUCAT et al., 2006).

No entanto, além dessa capacidade de atuar como um produtor antimicrobiano, alguns micro-organismos isolados de peixes podem ser responsáveis por doenças de origem alimentar. Al-Harbi e Uddin (2004) ao estudar a flora bacteriana identificada no intestino de tilápia híbrido, observaram que a microbiota variou sazonalmente, e as espécies *Aeromonas hydrophila*, *Shewanella putrefaciens*, *Corynebacterium urealyticum*, *Escherichia coli* e *Vibrio cholerae* foram dominantes em todos os isolados bacterianos. Também isolaram cepas de bactérias oportunista incluindo *Flavobacterium sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus sp.* e *Streptococcus sp.*, os quais possuem elevada importância dentre os micro-organismos presentes na microflora intestinal dos peixes, pois sob condições de estresse, estas bactérias podem ser agentes de intoxicação alimentar.

Além de a sazonalidade influenciar na flora bacteriana, algumas condições de armazenamento também altera a colonização das bactérias em pescados. Lalitha e Surendran (2006) isolaram micro-organismos de camarão congelado e nas duas primeiras semanas de estocagem a microflora era composta por grande parte de bactérias Gram-negativas dos gêneros *Aeromonas*, *Shewanella*, *Moraxella* e *Pseudomonas* e entre as gram-positivas, *Enterococcus*, *Micrococcus* e *Corynebacterium*. No final do armazenamento a maioria dos organismos predominantes eram *Aeromonas*, *S. putrefaciens* e *Pseudomonas*. Oku e Amakoromo (2013), também pesquisaram cepas bacterianas em pescado, e obtiveram doze isolados em peixes de água doce da Nigéria prevalecendo cinco bactérias identificadas como: *B. subtilis*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas* e *S. aureus*.

A identificação e como ocorre o desenvolvimento das bactérias deteriorantes ou patógenos na caracterização da microbiota de espécies de peixes durante a vida de prateleira é de extrema importância para manter a qualidade em diferentes condições de armazenamento (temperatura) durante sua estabilidade comercial.

3.3 TEMPERATURA LIMITE PARA O CRESCIMENTO DA MICROBIOTA ISOLADA

Ao monitorar o conteúdo de micro-organismos em órgãos internos de peixes é possível estimar como este alimento será afetado em relação a sua qualidade quando armazenado em condições adequadas durante estocagem. Diante disso, para verificar o desenvolvimento de bactérias isoladas da microbiota intestinal da pescadinha-real foram avaliadas a 7°C e 3°C representando, respectivamente, a temperatura de armazenamento convencional em refrigerador doméstico e uma condição limitante para o crescimento da maioria das bactérias patogênicas.

A Fig. 3.1 mostra o crescimento da microbiota intestinal da pescadinha-real a 7 °C após 56 horas. Nenhuma das cinco cepas apresentou diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tempos de crescimento. Isto mostra que durante o tempo de armazenamento (maior que 2 dias) na temperatura de (7 °C) não foi observado aumento de nenhuma das bactérias isoladas do intestino.

Ao avaliar o comportamento dos micro-organismos na temperatura de 3 °C (Fig. 3.2) as bactérias deteriorantes *S. cohnii* subsp. *urealyticum* e o patógeno oportunista *B. cepacia*, apresentaram crescimento com diferença significativa entre os tempos ($p \leq 0,05$). O desenvolvimento desses micro-organismos pode ter ocorrido devido à capacidade de adaptação durante estocagem em baixas temperaturas em experimentos de cultivo em meios.

Damasceno et al. (2015), ao avaliar o crescimento em temperaturas de 10 e 15°C durante 6 horas, encontrou que as 16 cepas identificadas na composição da flora bacteriana no músculo do tucunaré (*Cichla ocellaris*) e piramutaba (*Brachyplatystoma vailantii*), não se desenvolveram nas condições pesquisadas. Além disso, foi ressaltado pelos autores que as características do habitat de temperatura elevada (peixes de regiões tropicais) e a qualidade microbiológica, reduzem processos de deterioração e deixam mais lento o crescimento de patógenos quando esses peixes são estocados em temperaturas abaixo de 10°C. Assim como foi observado para a pescadinha-real que apresentou crescimento lento das cepas identificadas devido as características encontradas: boa qualidade microbiológica dos peixes e baixa habilidade de crescimento de certas bactérias presentes no intestino.

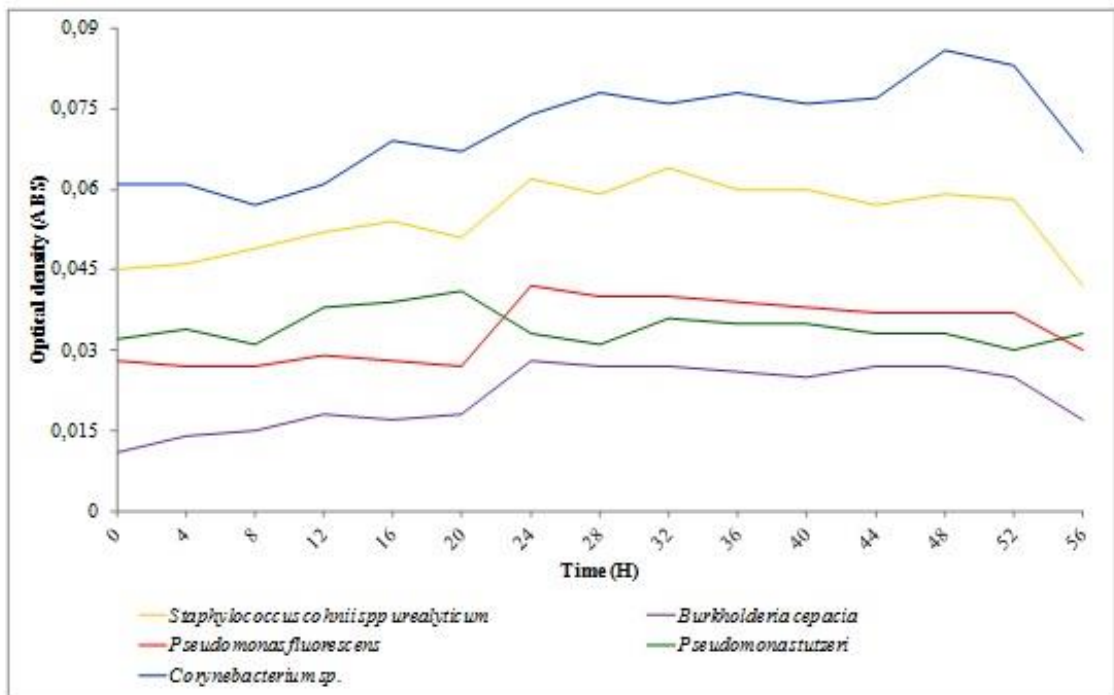


Figura 3.1. Crescimento da microbiota intestinal da pescadinha-real a 7 °C por 56 horas.

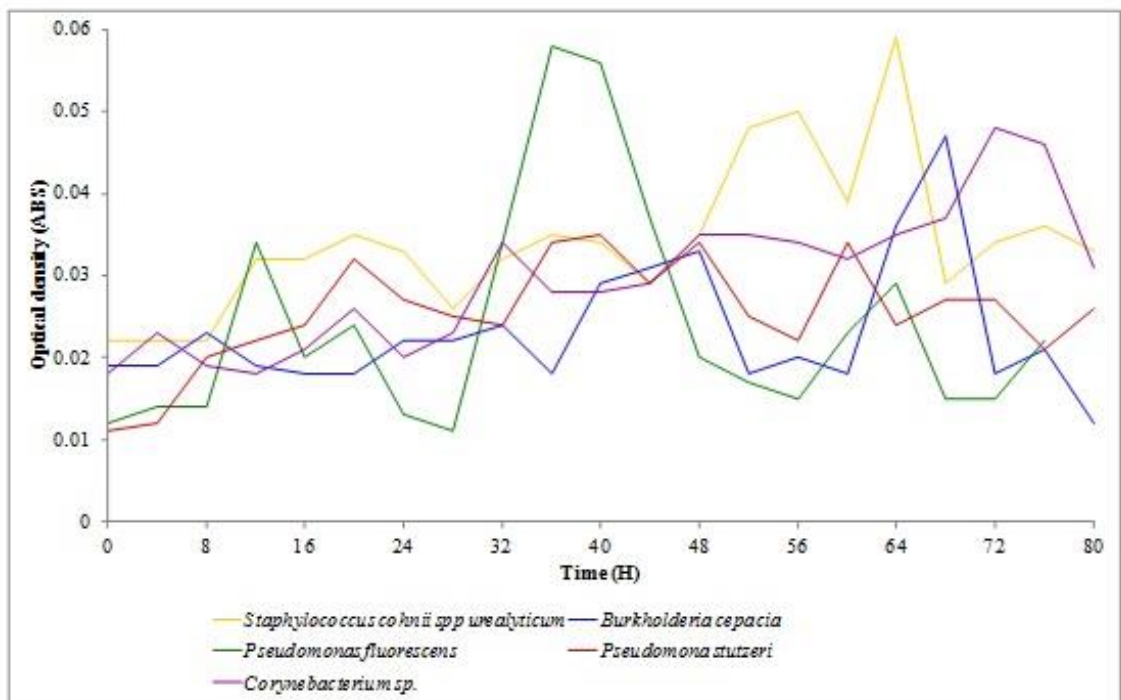


Figura 3.2. Crescimento da microbiota intestinal da pescadinha-real a 3 °C por 80 horas.

4. CONCLUSÃO

Devido apresentar qualidade microbiológica aceitável e conforme a identificação das bactérias da microbiota intestinal, a pescadinha-real pode prolongar a sua vida de prateleira quando armazenada em temperaturas baixas. Esta afirmativa baseia-se nas baixas contagens de mesófilos, psicrotróficos e coliformes termotolerantes. E as cinco espécies identificadas na microflora podem causar deterioração e/ou desempenhar papel de patógenos oportunistas, que não apresentaram desenvolvimento a 7 °C por 56 horas. Mas, a 3 °C, as bactérias *Staphylococcus cohnii* subsp. *Urealyticum* e o patógeno oportunista *Burkholderia cepacia*, apresentam crescimento significativo, implicando na segurança alimentar após três dias se estocado nessas condições.

REFERÊNCIAS

- AL-BULUSHI, I. M.; POOLE, S. E.; BARLOW, R.; DEETH, H. C.; DYKES, G. A. Speciation of Gram-positive bacteria in fresh and ambient-stored sub-tropical marine fish. **International Journal of Food Microbiology**, v. 138, p. 32-38, 2010.
- AL-HARBI, A. H.; NAIM, U.M. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia. **Aquaculture**, v. 229, p. 37-44, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 de janeiro de 2001. Seção 1, p. 45.
- DAMASCENO, E. I. T.; PANTOJA, L. N. G.; FIGUEIREDO, H. M.; SILVA, L. H. M.; RODRIGUES, A. M. C. Microbiota of two species of commercially important fish in the Amazon region (Belém-Pará-Brazil): Butterflyphycoc bass (*Cichia ocelarris*) and piramutaba (*Brachyplatystoma vailantii*). **African Journal of Microbiology Research**, v. 9, n.9, p. 572-580, 2015.
- DOWNES, F.P; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological**. Examinations of Foods. 4th. ed. Washington (DC): APHA, 2001.
- ENOCH, D. A.; BIRKETT, C. I.; LUDLAM, H. A. Non-fermentative gram-negative bacteria. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 3, p. S33-S41, 2007.
- GRAM, L.; HUSS, H. H. Microbial spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 121-137, 1996.
- GRAM, L.; DALGAARD, P. Fish spoilage bacteria- problems and solutions. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, p. 262-266, 2002.
- HANCOCK, R. E. W. Resistance mechanisms in *Pseudomonas aeruginosa* and other nonfermentative Gram negative bacteria. **Clinical Infectious Diseases**, v. 27, n. 1, p. S93-S99, 1998.
- ICMSF. Internacional Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microorganisms in Foods 6: Microbial Ecology of Food Commodity**. 2nd. ed. New York: Kluwer Academic, 2005.
- JAY, J. M. **Food of Microbiology**. 6º ed. Brazil: Artmed, 2009, 712 p.
- LALITHA, K. V.; SURENDRAN, P. K. Microbiological changes in farm reared freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in ice. **Food Control**, v. 17, p. 802-807, 2006.
- LALUCAT, J.; BENNASAR, A.; BOSCH, R.; GARCIA-VALDES, E.; PALLERONI, N. J. Biology of *Pseudomonas stutzeri*. **Microbiological Molecular Biology Revista**, v. 70, p. 510-547, 2006.

- MIRANDA, C. D.; ZEMELMAN, R. Bacterial resistance to oxytetracycline in Chilean salmon farming. **Aquaculture**, v. 212, p. 31-47, 2002.
- MOL, S.; TOSUN, Y. The quality of fish from retail markets in Istanbul, Turkey. **Journal of Fish Science**, v. 5, n. 1, p. 16-25, 2011.
- NAYAK, S. K. Role of gastrointestinal microbiota in fish. A Review. **Aquaculture Research**, 41: 1553 – 1573, 2010.
- OKU, I.; AMAKOROMO, E. R. Microflora of fresh and smoke-dried fish in Yenagoa metropolis, Nigeria. **African Journal of Microbiology Research**, v. 7, n. 35, p. 4451-4456, 2013.
- PIETTE, A.; VERSCHRAEGEN, G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. **Veterinary Microbiology**. 134: 45-54.
- RODRIGUES, M. J.; HO, P.; LÓPEZ-CABALLERO, M. E.; VAZ-PIRES, P.; NUNES, M. L. Characterization and identification of microflora from soaked cod and respective salted raw materials. **Food Microbiology**. v. 20, p. 471-481, 2003.
- SANTOS, S.; SCHNEIDER, H.; SAMPAIO, I. Genetic differentiation of *Macrodon ancylodon* (Sciaenidae, Perciformes) populations in Atlantic coastal waters of South America as revealed by mtDNA analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 26, n. 2, p. 151-161, 2003.
- SPENCER, R. C. The emergence of epidemic, multiple-antibiotic-resistant *Stenotrophomonas (Xanthomonas) maltophilia* and *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. **Journal of Hospital Infection**, v. 30, p. 453-464, 1995.
- TAMMY, L.; BANNERMAN, T. L. New *Staphylococcus* Species. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 18, n. 10, p. 73-76, 1996.
- THONG, T. A. N.; NOSEDA, B.; SAMAPUNDO, S.; NGUYEN, B. L.; BROEKAERT, K.; RASSCHAERT, G.; HEYNDRIKX, M. Microbial ecology of Vietnamese Tra fish (*Pangasius hypophthalmus*). **International Journal of Food Microbiology**, v. 167, p. 144-152, 2013.
- VAN DEN BROEK, M. J. M.; MOSSEL, D. A. A.; MOL, H. Microbiological quality of retail fresh fish fillets in The Netherlands. **International Journal of Food Microbiology**, v. 1, p. 53-61, 1984.
- ZHANG, W.; HU, Y.; WANG, H.; SUN, L. Identification and characterization of a virulence-associated form a pathogenic *Pseudomonas fluorescens* strain. **Veterinary Microbiology**, v. 139, p. 183-188, 2009.
- ZELL, C.; RESCH, M.; ROSENSTEIN, R.; ALBRECHT, T.; HERTEL, C.; GOTZ, F. Characterization of toxin production of coagulase-negative staphylococci isolated from food and starter cultures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 127, p. 246-251, 2008.

CAPÍTULO IV

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DE QUALIDADE DE FILÉS DE *Macrodon ancylodon* EMBALADOS EM ATMOSFERA MODIFICADA

RESUMO

O uso de embalagens com atmosfera modificada em produtos de peixe facilita a manter o frescor, a segurança alimentar e aumentar a estabilidade comercial. O objetivo desta pesquisa foi avaliar os parâmetros de qualidade de produtos de filés de *Macrodon ancylodon* embalados em atmosferas modificadas armazenados a 2°C. As alterações foram acompanhadas através de avaliação sensorial, com aplicação do Método de Índice de Qualidade (QIM), determinação do pH, bases voláteis nitrogenadas totais (N-BVT), quantificação das aminas biogênicas, cor instrumental, composição gasosa das embalagens e análises microbiológicas. Foram elaborados produtos de filés de *M. ancylodon* embalados em atmosferas a vácuo (V) e com misturas gasosas de 50% CO₂/50% N₂ (G1), 60% CO₂/40% N₂ (G2) e 70% CO₂/30% N₂ (G3). A dissolução do CO₂ na fase aquosa do músculo dos filés nos primeiros dias de estocagem foi influenciada pelo teor desse gás nas embalagens e ocasionou as principais alterações nos parâmetros de qualidade avaliados. As principais alterações sensoriais nos produtos G2 e G3 foram cor, o odor e as mudanças no aspecto do muco dos filés. Os efeitos bacteriostáticos do CO₂ sobre o crescimento dos micro-organismos deteriorantes prolongou a estabilidade comercial do produto G3. A perda de frescor dos produtos pelo aumento do pH, acúmulo de N-BVT e quantidade de putrescina e cadaverina também foi influenciado pela composição da mistura gasosa nos produtos. A correlação entre os parâmetros avaliados indicou que a estabilidade comercial dos produtos foi de 6 dias para G2 e 10 dias para G3.

Palavras-chaves: teor de CO₂, *Macrodon ancylodon*, parâmetros de qualidade.

1. INTRODUÇÃO

O uso de tecnologias de conservação como a embalagem em atmosfera modificada (EAM), que consiste na substituição do ar no interior da embalagem, por uma mistura de gases como oxigênio (O_2), dióxido de carbono (CO_2) e nitrogênio (N_2) no produto, pode contribuir para manter os atributos sensoriais (frescor) e a segurança alimentar dos produtos com peixe.

A EAM tem sido amplamente utilizada para aumentar a vida de prateleira de produtos proteicos refrigerados, tais como carnes e peixes, pois o prazo de validade destes produtos pode ser prolongado pela utilização de vácuo na embalagem ou pela introdução de um único gás ou de uma mistura gasosa (CO_2 , N_2 e O_2). Na última década, as combinações gasosas de CO_2 e N_2 foram às misturas mais comumente estudadas para embalagens de peixes (SANTOS; OLIVEIRA, 2012; YASSORALIPOUR et al., 2012; BABIC et al., 2015).

A ação no aumento da vida útil dos produtos deve-se ao efeito inibitório do CO_2 sobre os diferentes tipos de micro-organismos e à redução ou remoção do O_2 do interior da embalagem. O CO_2 é considerado um agente bacteriostático e não bactericida, agindo através de mecanismos pouco compreendidos, como a alteração da função da membrana celular (incluindo a absorção de nutrientes) e a diminuição na taxa de reações enzimáticas através de alterações do pH intracelular (SIVERTSVIK et al., 2002). Além disto, tem sido observado que variações da concentração de CO_2 influencia no crescimento de bactérias e as mais tolerantes a altas concentrações desse gás são as gram-positivas (DELVLIEGHERE; DEBEVERE, 2000). Desta forma, quanto maior a presença de CO_2 na embalagem pode resultar em menor produção de aminas (que são responsáveis por odores e sabores desagradáveis), levando a não percepção das alterações sensoriais em produtos de peixe (MILNE et al., 2014).

É importante ressaltar que algumas medidas devem ser adotadas para garantir os efeitos benéficos da EAM, como o uso associado de temperaturas mais baixas, o que melhora a dissolução do CO_2 (SIVERTSVIK et al., 2002). Assim como, a utilização de matéria-prima de boa qualidade, com baixa contagem de bactérias, pode desfavorecer a produção de metabólitos que alteram a palatabilidade do produto (MILNE et al., 2014).

O processo de deterioração nos peixes é bem conhecida, ocorrendo a degradação autolítica das enzimas, seguida de ação microbiana e finaliza com a rejeição sensorial do

produto (GRAM; HUSS, 1996). Algumas espécies, após o abate, elevam rapidamente o pH e apresentam características morfológicas desfavoráveis (escamas finas e frágeis), que podem acelerar a perda dos atributos de frescor. A espécie marinha *Macrodon ancylodon*, que possui ampla distribuição geográfica e perspectiva econômica na América do Sul pode apresentar rápida alteração do pH, crescimento microbiano e precipitada perda do frescor durante o armazenamento dos filés (LEMPEK et al. 2001; MARTINS, 2011).

Baseado no exposto, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar a qualidade de filés de *Macrodon ancylodon*, embalados em diferentes atmosferas e armazenado sob refrigeração através de métodos sensorial, físico-químico e microbiológico e estabelecer sua estabilidade comercial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DOS PRODUTOS

Para a obtenção dos filés de *Macrodon ancylodon* foram utilizados um total de 200 peixes divididos em quatro lotes, sendo todos higienizados com 5ppm, eviscerados e filetados (com pele). Os filés apresentaram cerca de 95 g e foram acondicionados individualmente em embalagens constituídas com barreira para os gases (poliamida).

Foi realizado teste preliminar onde os filés embalados permaneceram em quatro diferentes atmosferas modificada (AM) descrito na Tab. 4.1, visando escolher os dois melhores tipos de AM. Isto foi realizado através do acompanhamento da composição gasosa e de análise microbiológica (contagem de bactérias psicrófilas) de 3 embalagens em intervalos de 5 dias. Nesse teste os filés embalados nas diferentes AM foram mantidos em temperatura de 2°C por 20 dias e acompanhados por amostra controle (C) embalada com 100% ar atmosférico.

Tabela 4.1. Tipos de atmosferas e composição para o teste preliminar.

Tipos de AM	Composição das atmosferas
C	100% ar
V	VÁCUO
G1*	50% CO ₂ /50% N ₂
G2*	60% CO ₂ / 40% N ₂
G3*	70% CO ₂ /30% N ₂

*Proporção de 2:1 para a relação volume de gás e produto.

Através do teste preliminar foram selecionadas duas AM para avaliar os parâmetros de qualidade desses produtos durante a vida de prateleira. Após o acondicionamento dos filés, três embalagens de cada produto das AM escolhidas aleatoriamente foram destinadas para a avaliação sensorial e físico-química e 2 para microbiológica. Estas avaliações foram realizadas em intervalos de 48 horas. Foi medido também o espaço livre em todas as embalagens (% da composição gasosa). O armazenamento foi realizado nas mesmas condições do teste preliminar realizado anteriormente.

2.2 AVALIAÇÃO SENSORIAL

O protocolo utilizado para desenvolver o Método de Índice de Qualidade (MIQ) dos filés de *M. ancylodon* embalados em AM utilizou metodologia proposta por Sveinsdottir et al. (2003). Para desenvolver o protocolo MIQ foram selecionados de 7 a 10 julgadores, através da aplicação de questionário, visando avaliar se os julgadores tinham conhecimento dos parâmetros sensoriais que determinam o frescor de peixes. Após a seleção, foi realizada uma sessão de esclarecimento sobre os fundamentos e princípios do método MIQ.

A obtenção do protocolo MIQ ocorreu em 3 fases com sessões e lotes distintos para cada fase. A duração de cada sessão foi de 1 h, realizadas no laboratório com temperatura de cerca de 20°C, iluminação adequada e julgadores com máscaras, luvas e touca. Duas amostras de filés de cada tipo de atmosfera foram utilizadas por sessão, escolhidas aleatoriamente, mantidas em bandejas de cor clara, codificadas com números de 3 dígitos e sem informações do tempo de estocagem.

Na Fase 1 foram observadas e anotadas nas fichas de avaliação a cada 48 horas, todas as alterações sensoriais da amostra controle (C) (embaladas com 100% de ar), dos filés de *M. ancylodon* e armazenadas a 2°C. Nesta primeira fase além do acompanhamento microbiológico, no final foram utilizados os principais parâmetros sensoriais descritos e sugestões dos julgadores para a elaboração de uma versão consensual do protocolo MIQ inicial.

Na Fase 2 foi utilizado o protocolo MIQ inicial para avaliar os dois tipos de produtos de filé embalados nas AM, selecionadas no teste preliminar, e associadas a amostra controle (embaladas com 100% de ar). Nesta fase, o objetivo foi obter informações dos julgadores quanto às alterações dos atributos sensoriais detectados em cada tipo de produto e, por

concordância, obter uma versão final do protocolo MIQ para filés de *M. ancylodon* em AM armazenados a 2 °C.

Na última fase (Fase 3) foi obtido o Índice de Qualidade (IQ) dos dois tipos de produtos de filés em AM através da aplicação do protocolo MIQ final durante o monitoramento da estabilidade comercial. Esta fase também teve acompanhamento da amostra controle (C).

2.3 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Foi medida a composição gasosa (% O₂ e CO₂) do espaço livre do interior das embalagens, utilizando analisador de gases Check Point (Marca DANSENSOR). Para analisar o pH utilizou-se metodologia da AOAC (2000). As Bases Voláteis Totais (N-BVT) foram determinadas através do método descrito em Brasil (1999), a perda por gotejamento (*Drip loss*) foi de acordo com a metodologia de Gomez-Guillen et al., (2000) e os resultados expressos em porcentagem, através da diferença entre os pesos inicial e final dos peixes. A quantificação de aminas biogênicas foi realizada de acordo com Lázaro de La Torre (2013), usando HPLC equipado com detector de arranjo de iodo, pré-coluna Extrasil Tracer ODS2 (15 x 0.46 cm, 5 µm) e coluna Supelco Ascentis C18 (2 × 0,40, 5 µm), identificadas de acordo com os tempos de retenção e quantificadas a partir das áreas dos picos. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

2.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Foram realizadas análises de coliformes a 45° C, *Salmonella sp.* e estafilococos coagulase positiva nas amostras de cada lote. As contagens de mesófilos e psicotróficos foram realizadas a cada 5 dias durante o teste preliminar e em intervalos de 48 horas durante o desenvolvimento do protocolo MIQ, obtenção do IQ e monitoramento da estabilidade comercial dos produtos de filé. Todas as análises seguiram a metodologia descrita por Downes e Ito (2001) e foram realizadas em duplicata.

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os valores obtidos foram avaliados com o auxílio do programa XLSTAT para Windows, versão 2012, empregando análise de variância (ANOVA), teste de Tukey ao nível de 5% de significância e Regressão Linear Simples.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 SELEÇÃO DOS TIPOS DE ATMOSFERA

Os resultados do monitoramento da composição gasosa e microbiológica do teste preliminar dos filés de *M. ancylodon* acondicionados nas diferentes atmosferas encontram-se nas Fig. 4.1A e 4.1B. Não houve variação significativa ao medir o percentual de O₂ nas embalagens com adição de gases durante o teste preliminar de 20 dias.

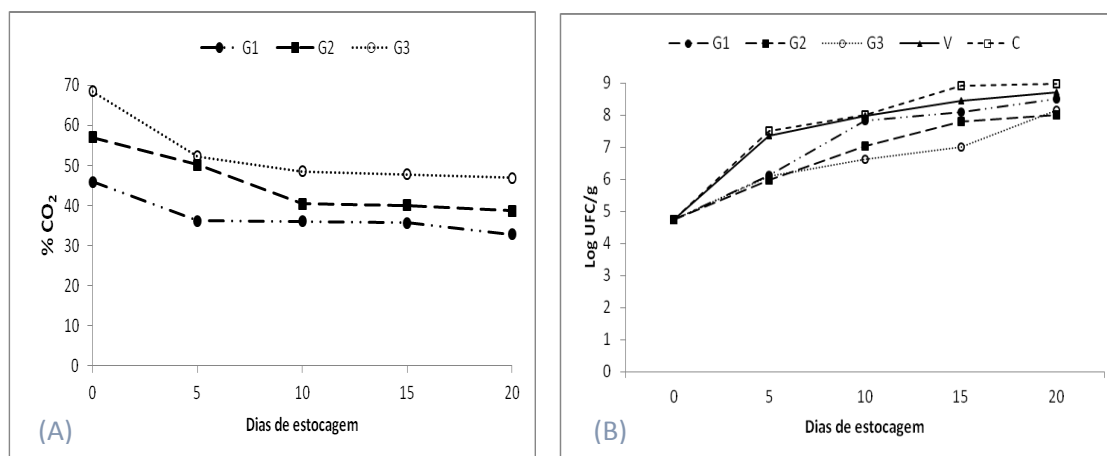


Figura 4.1. (A) Composição gasosa das embalagens e (B) contagem de bactérias psicrotróficas nos filés de *M. ancylodon* em diferentes tipos de AM. V = vácuo, G1 = 50% CO₂/50% N₂, G2 = 60% CO₂/40% N₂, G3 = 70% CO₂/30% N₂ e C = 100% ar.

A composição gasosa no espaço livre das embalagens diminuiu rapidamente até o 5º dia, devido à dissolução do CO₂ na parte aquosa dos filés de *M. ancylodon* e, depois manteve-se constante até o final do armazenamento (Fig. 4.1A).

Na Fig 4.1B observa-se o crescimento mais lento das bactérias psicrotróficas nos produtos mantidos nas atmosferas do tipo G3 e G2, devido o teor de CO₂. O produto G3 (70%

CO₂/30% N₂) somente após 15 dias se aproximou (7,02 log UFC/g) da legislação internacional da ICMFS (2005) para pescado refrigerado, cujo limite máximo permitido é de 7 log UFC/g. O produto G2 se aproximou desse limite após 10 dias e o G1, neste mesmo tempo de armazenamento, ultrapassou o permitido pela legislação vigente. Isto ocorreu porque nos primeiros cinco dias de armazenamento houve dissolução do CO₂ no músculo, favorecendo a ação antimicrobiana deste gás, retardando o crescimento do número de microorganismos viáveis presentes nos filés (DEVLIEGHERE; DEBEVERE, 2000).

O produto embalado a vácuo (V) apresentou comportamento semelhante ao observado na amostra controle (C), ultrapassando o limite em menos de 5 dias.

O crescimento mais lento das bactérias psicrotróficas nos produtos mantidos nas atmosferas do tipo G3 e G2 foi determinante para a escolha desses dois tipos de AM para elaboração dos produtos.

3.2 COMPOSIÇÃO GASOSA DOS PRODUTOS

A Fig. 4.2 mostra os resultados da composição gasosa nos produtos G2 e G3. Ocorreu elevada dissolução do CO₂ na fase aquosa do músculo do filé no primeiro dia de armazenamento nos dois tipos de produto até ser atingido o equilíbrio dentro da embalagem.

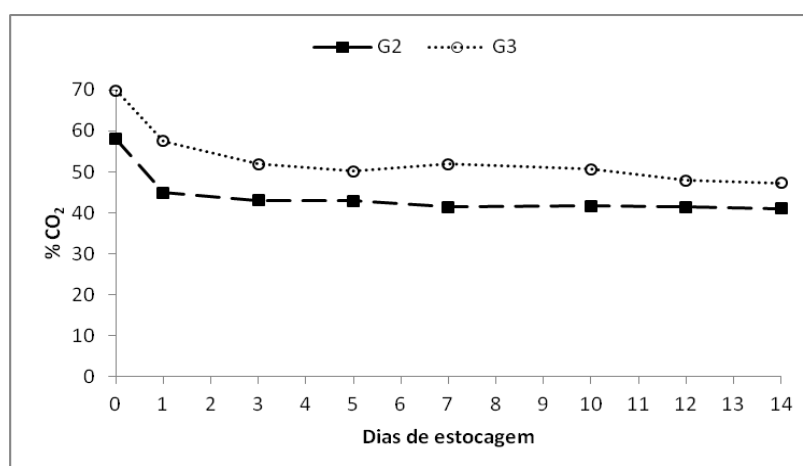


Figura 4.2. Mudanças na composição gasosa do espaço livre das embalagens de atmosfera modificada dos produtos de filé de *M. ancylodon* armazenados a 2°C.

A amostra G3 mostrou declínio até o 3º dia devido a maior quantidade de CO₂ nesse produto. Após esse equilíbrio, os níveis de CO₂, nos produtos G2 e G3 apresentaram

tendências semelhantes e constantes de diminuição com o tempo de armazenamento, conforme relatado em outros trabalhos (CYPRIAN et al., 2013). Os níveis de O₂ medidos na composição gasosa de ambos produtos não apresentaram diferença durante o armazenamento com nível médio de 1,2%.

Foi observado que após o 5º dia de medição do percentual de gás no espaço livre, em pelo menos uma das embalagens coletadas para a realização das análises, apresentava valor muito distante da média do obtido para o CO₂. Esse fato pode ter ocorrido devido colapso ou falhas nas embalagens de poliamida que favorecem a saída dos gases. As embalagens que apresentavam composição gasosa mais próxima foram selecionadas para realizar a avaliação sensorial e microbiológica.

3.3 AVALIAÇÃO SENSORIAL

A Tab. 4.2 apresenta o protocolo MIQ de filé de *M. ancylodon* embalado em atmosfera modificada mantido sob refrigeração (2°C), com os parâmetros específicos das alterações sensoriais relevantes que foram avaliadas e listadas por consenso de 9 julgadores durante o período de armazenamento.

Os parâmetros avaliados receberam até 4 descritores com pontos de deméritos que variaram de 0 a 3. A textura foi o único parâmetro que variou apenas de 0 a 1 devido a frágil estrutura do músculo das espécies da família *Sciaenidae*.

A Fig. 4.3 mostra a perda de frescor dos produtos (G3 e G2) durante o período de armazenamento atribuído a obtenção da soma das pontuações nas mudanças graduais observadas durante a avaliação sensorial, originando o IQ para cada dia de estocagem, através da aplicação do protocolo MIQ do filé de *M. ancylodon* em EAM sob refrigeração (2°C).

A evolução do IQ para os produtos de filé de pescada gó (G2 e G3), assim como as amostras controle (C), encontram-se altamente correlacionadas ($R^2 \geq 1$) com o tempo de armazenamento. As equações lineares para os produtos foram expressas em $IQ (G2) = 0,9824 \times \text{dias} - 0,7261$ ($R^2 = 0,9793$) e $IQ (G3) = 0,9948 \times \text{dias} - 1,39$ ($R^2 = 0,9598$), respectivamente. O comportamento linear do IQ foi estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$).

Observou-se que no primeiro dia de armazenamento, os dois produtos (G2 e G3) tiveram baixos IQ, sendo os filés embalados com 70% CO₂/30% N₂ (G3) os que apresentaram um índice de frescor máximo, iniciando com IQ igual a 0. No entanto, no final do tempo de

armazenamento, ambos os produtos atingiram igual soma dos pontos de escore (IQ= 14), que foi próximo da pontuação máxima do protocolo.

Observou-se que no primeiro dia de armazenamento, os dois produtos (G2 e G3) tiveram baixos IQ, sendo os filés embalados com 70% CO₂/30% N₂ (G3) os que apresentaram um índice de frescor máximo, iniciando com IQ igual a 0. No entanto, no final do tempo de armazenamento, ambos os produtos atingiram igual soma dos pontos de escore (IQ= 14), que foi próximo da pontuação máxima do protocolo.

Tabela 4.2. Protocolo MIQ desenvolvido para o filé de *Macrodon ancylodon* embalado em atmosfera modificada (EAM), mantido sob refrigeração (2°C).

Parâmetros	Descrição das características	Pontos de deméritos
Cor (lombo)	Bege, branco, brilhante	0
	Ligeiramente opaco, pouco amarelado a levemente rosado	1
	Amarelado, bege opaco, acinzentado	2
Cor (aba/borda)	Azulado, brilhante	0
	Cor leitosa, esbranquiçado	1
	Acinzentado ou acastanhado	2
Pele	Brilhante, coloração característica	0
	Perda do brilho e coloração	1
	Opaca	2
Muco	Ausência	0
	Claro, transparente e fino	1
	Ligeiramente viscoso	2
	Muito viscoso, aspecto lácteo	3
Odor	Fresco, alga marinha	0
	Neutro, não fresco	1
	Levemente leite azedo	2
	Levemente pútrido, amoniacal	3
Textura	Ligeiramente mole	0
	Mole	1
Disposição das fibras musculares	Sem aberturas	0
	Poucas aberturas (< 25%)	1
	Aberturas leve (25 - 75%)	2
Índice de Qualidade		0-15

Observou-se que no primeiro dia de armazenamento, os dois produtos (G2 e G3) tiveram baixos IQ, sendo os filés embalados com 70% CO₂/30% N₂ (G3) os que apresentaram um índice de frescor máximo, iniciando com IQ igual a 0. No entanto, no final do tempo de armazenamento, ambos os produtos atingiram igual soma dos pontos de escore (IQ= 14), que foi próximo da pontuação máxima do protocolo.

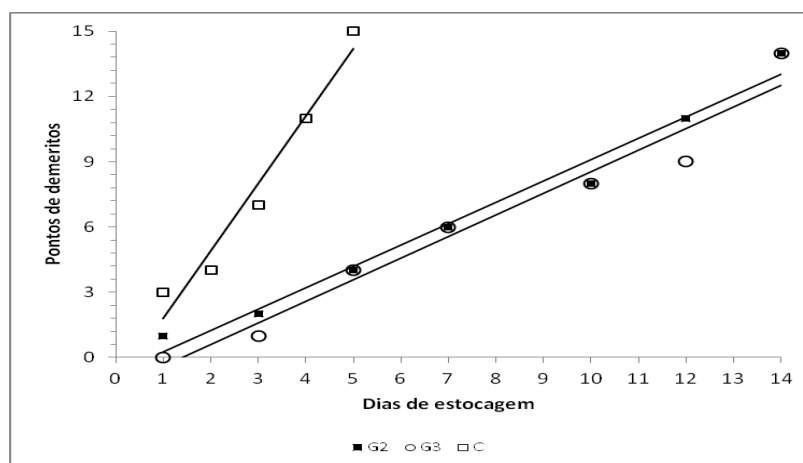


Figura 4.3. Correlação linear entre dias de armazenamento em gelo e o Índice de Qualidade (IQ) para filés de *M. acylodon* em EAM. G2 = 60%CO₂/40%N₂, G3 = 70% CO₂/30% N₂ e C= 100% atm.

O tipo de atmosfera modificada nos produtos influenciou no progresso do IQ durante o armazenamento, principalmente nos parâmetros de qualidade tais como, muco, cor da borda (aba) e odor. A elevada exsudação dos filés embalados com maior quantidade de CO₂ (G3) favoreceu a alteração do muco do produto. Em G2 foi observada alteração da cor e odor, influenciando na evolução do IQ, provocada pela degradação das proteínas musculares e dos pigmentos, favorecida pelo crescimento de micro-organismos deterioradores que aceleram o escurecimento, opacidade e odor nos filés.

O fim da vida útil de produtos geralmente é determinado quando a deterioração e as alterações sensoriais tornam-se evidentes e a maioria dos julgadores consegue detectar (SVEINSDOTTIR et al., 2003). Logo, a estabilidade comercial no produto G2 foi mantida até o 10º dia e para G3 essa percepção foi alcançada no 12º dia.

Todos os parâmetros estudados apresentaram tendência ascendente durante o período de armazenamento. No entanto, o muco, a cor da borda (aba) e o odor foram os parâmetros que progrediram mais rapidamente, apresentando crescente tendência linear e alta correlação ($R > 0,90$) com o período de armazenamento a 2°C. Os parâmetros com baixa linearidade foram textura e disposição das fibras, principalmente devido a frágil estrutura do músculo da espécie *M. acylodon* e a variação do manuseio durante a filetagem.

A evolução do IQ dos produtos ao longo do tempo obteve melhor correlação linear do que com os parâmetros individuais analisados, demonstrando que o protocolo MIQ

desenvolvido para filé de *M. ancylodon* embalados com atmosfera modificada pode ser utilizado na avaliação de diferentes tipos de produtos embalados em AM.

3.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

A contagem de estafilococos coagulase positiva apresentou resultado inferior ao limite de 10^3 UFC/g e ausência de *Salmonella* spp em todos os lotes analisados estando de acordo com a legislação brasileira vigente (BRASIL, 2001). Aliado a isso, a boa qualidade da matéria prima foi demonstrada também pela análise de coliformes a 45°C que apresentou baixa contagem (3,6 - 75 NMP/g), indicando não ter ocorrido contaminação da matéria-prima no local de captura e na manipulação durante a elaboração dos produtos.

A legislação brasileira não determina um limite para contagem total dessas bactérias em pescado, no entanto, a presença desses micro-organismos indica se houve higienização adequada, controle da temperatura e manipulação correta durante o processo de elaboração e período de estocagem. A Fig. 4.4A mostra o limite máximo da contagem de bactérias heterotróficas aeróbias mesófilas (CBHAM) e a Fig. 4.4B para psicrotróficas (CBHAP).

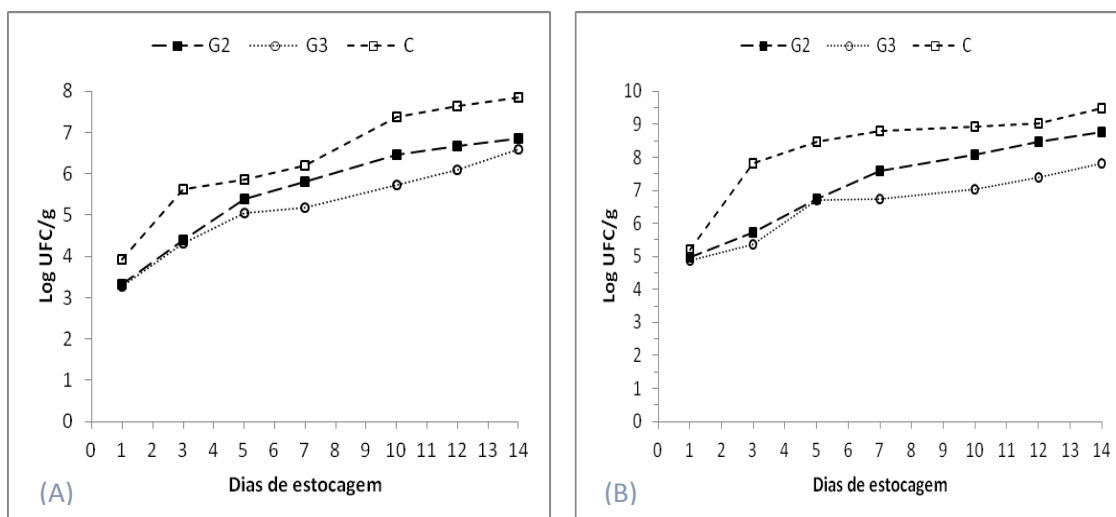


Figura 4.4. Correlações entre dias de armazenamento e contagens de bactérias mesófilas (A) e psicrotróficas (B) em filés de *M. ancylodon* nos produtos G2 (60% CO₂/40% N₂), G3 (70% CO₂/30% N₂) e na amostra controle com 100% atm (C).

O limite máximo permitido pela ICMFS (2005) para contagem padrão de placas de aeróbios mesófilos e psicrotróficos em pescado refrigerado é 7 log UFC/g. Os resultados da

Fig. 4.4A mostram que a contagem das bactérias mesófilas (CBHAM) nos produtos G2 e G3 não atingiram esse limite e os embalados em 100% ar (C) somente a partir do 10º dia. Os resultados mostram que os produtos foram elaborados em condições higiênicas adequadas e com eficiente controle da temperatura de refrigeração (2°C) durante o armazenamento. Agnese et al (2001) relataram que valores de bactérias mesófilas superiores a 6 log UFC/g em peixes são considerados críticos e estão relacionados à diminuição do frescor e alterações nas características sensoriais. Esta alteração foi percebida no produto G2 no 10º dia devido à alteração na cor do músculo e presença de muco e em G3 mesmo após 12 dias de armazenamento o produto ainda apresentava frescor aceitável, indicando variações tardias dessas características sensoriais.

Na Fig. 4.4B observa-se que as contagens de psicotróficas (CBHAP) ultrapassam 7 log UFC/g antes do 7º dia nos produtos G2 e a partir do 10º dia para G3, sendo considerados impróprios para o consumo humano. Huss (1995) assegura que a deterioração de peixes, por bactérias psicotróficas, apresenta mudanças significativas no odor, textura e cor quando armazenados em baixas temperaturas.

As bactérias psicotróficas não-proteolítica como o *Clostridium botulinum* tipo E tem a capacidade de crescer e produzir toxinas em produtos de pescado embalados em condições anaeróbias e baixas temperaturas (≤ 3 °C) (GRAHAM et al., 1997). Portanto, é necessário existir um controle rigoroso de temperatura para garantir a segurança e vida de prateleira desses produtos (SIVERTSVIK et al., 2002).

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas indicaram que a vida útil dos produtos de filé de *M. ancylodon* do grupo controle (C) foi inferior a 3 dias e para os embalados em AM foi de 6 dias no produto G2 (60%CO₂/40% N₂) e 10 dias para G3 (70%CO₂/30% N₂). A extensão do prazo de estabilidade comercial dos produtos G2 e G3 estão relacionadas aos efeitos bacteriostáticos do CO₂, uma vez que os micro-organismos apresentaram crescimento mais lento durante todo o período de armazenamento, semelhantes ao observado em estudos realizados por Arashisar et al (2004) para filés de truta e Stamatis e Arkoudelos (2007) para filés de sardinha.

3.5 AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

Na Tabela 4.3 estão os resultados da avaliação físico-química dos produtos de filé de *M. ancylodon* em EAM e armazenados em refrigeração (2°C).

Os valores de pH para os produtos somente se mantiveram dentro do limite estabelecido pela legislação brasileira de 6,5-6,8 (BRASIL, 2001) no início do armazenamento. G2 e G3 apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) apenas no último dia de armazenamento (14º dia). Os valores de pH aumentam durante a estocagem, devido ao acúmulo de N-BVT, alterações nas reações bioquímicas, ação de enzimas presentes no músculo provenientes de atividades autolíticas e a quantidade de micro-organismos viáveis, causando alterações sensoriais indesejáveis nos peixes (GONÇALVES, 2011; GONÇALVES et al., 2015).

Tabela 4.3. Resultados das análises físico-químicas dos produtos G2 e G3.

Análises	Dias						
	1	3	5	7	10	12	14
pH G2	6,73 ^e	7,06 ^d	7,20 ^{c,d}	7,37 ^c	7,97 ^b	8,06 ^b	8,27 ^a
pH G3	6,70 ^e	6,96 ^d	7,20 ^c	7,21 ^c	7,78 ^b	7,84 ^b	8,13 ^a
N-BVT G2 (mg N/100g)	11,56 ^e	13,34 ^{d,e}	19,21 ^d	19,92 ^d	40,73 ^c	59,97 ^b	74,96 ^a
N-BVT G3 (mg N/100g)	11,38 ^f	13,34 ^{e,f}	17,43 ^{d,e}	17,68 ^d	35,04 ^c	45,13 ^b	72,04 ^a
Aminas biogênicas (mg/kg) em G3							
Histamina	0,00 ^a	0,03 ^a	0,15 ^a	0,00 ^a	0,00 ^a	0,17 ^a	1,39 ^b
Tiramina	2,65 ^b	2,14 ^b	2,05 ^b	5,51 ^c	1,35 ^b	1,70 ^b	0,00 ^a
Putrescina	0,09 ^c	0,01 ^c	1,41 ^c	0,35 ^c	17,99 ^b	10,34 ^b	33,57 ^a
Cadaverina	0,06 ^b	0,18 ^b	0,31 ^b	0,04 ^b	0,25 ^b	0,30 ^b	1,38 ^a
Espermidina	0,10 ^b	0,08 ^b	0,00 ^b	0,08 ^b	1,11 ^a	0,04 ^b	1,86 ^a
Espermina	0,04 ^b	0,03 ^b	0,52 ^b	0,09 ^b	2,26 ^a	0,24 ^b	0,05 ^b

*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$).

Os resultados de N-BVT foram afetados pela atmosfera usada, ou seja, a mistura de gás com menor teor de CO₂ continha maiores valores de N-BVT com diferença significativa ($p \leq 0,05$), aumentando a partir do 5º dia progressivamente até o 14º dia, com boa correlação linear e valores de R² (G2) = 0,90 e R² (G3) = 0,85.

Os valores de N-BVT apresentaram tendência crescente durante o período de armazenamento devido ao crescimento das bactérias heterotróficas mesófilas e psicrotólicas (BABIC et al., 2015). A partir do 10º dia foi observado nos produtos (G2 e G3) diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os dias do armazenamento. Neste dia também foi observado que os teores de N-BVT estavam acima do limite estabelecido pela legislação brasileira de 30 mg N/100 g (BRASIL, 1997). O N-BVT dos produtos em atmosfera modificada foi considerado um bom indicador de frescor, compatível com outros parâmetros de avaliação, como a aceitação sensorial e contagem de bactérias totais.

A determinação de aminas em alguns peixes pode ser utilizada como bom marcador e potencial de toxicidade, pois algumas aminas podem potencializar a toxicidade da histamina (KRIZEK et al., 2002). A análise de aminas bioativas foi realizada apenas para o produto G3 que obteve o maior tempo de vida útil em comparação a avaliação sensorial e microbiológica (Tab. 4.3).

Observa-se que a putrescina foi a amina que apresentou teor mais elevado no filé de *M. ancylodon* embalado com 70% CO₂/30% N₂ (G3) armazenado a 2°C. A putrescina, a tiramina e a histamina apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) no final do armazenamento (14º dia) e a espermina no início (10º dia).

A presença de aminas no início do armazenamento, como a tiramina, sugere atividade enzimática de origem microbiana (BULUSHI et al., 2009). No entanto, ao longo do armazenamento foi observado um declínio acentuado dessa amina, e isso se deve ao efeito bacteriostático do CO₂ quando esse gás é dissolvido no músculo dos filés e retarda o crescimento microbiano.

O aparecimento de aminas bioativas antecede a detecção dos sinais sensoriais que indicam a deterioração do pescado, o que confere a este parâmetro a possibilidade de ser utilizado como índice químico para monitorar o frescor ou degradação do alimento. Diante disso, observou-se que no 10º dia as quantificações elevadas para putrescina, espermina e espermidina elevaram o índice químico, demonstrando sinais de alteração sensorial dos filés de *M. ancylodon* embalados a 70%CO₂/30%N₂ (G3). No entanto, somente no 14º dia de armazenamento os filés desse produto, evidenciaram sua rejeição sensorial na percepção dos julgadores. Este fato se explica devido a elevada presença da putrescina, com valor acima de 20 mg/kg, que, segundo Krizek et al. (2002), indica peixe de baixa qualidade.

Em embalagens com atmosfera modificada observa-se maior perda por gotejamento (formação de exsudados) devido à dissolução do CO₂ que ocorre no filé e que diminui a capacidade do músculo em reter água (SIVERTSVIK et al., 2002). Na Fig. 4.5 observa-se que em G3 os filés apresentaram valores mais elevados para perda por gotejamento, devido o maior teor de CO₂. Para G2 e G3 os resultados obtidos durante a estocagem demonstram que somente no 10º dia se registrou diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os filés dos produtos. E após o 12º dia houve elevada formação de exsudados pelo aumento da perda de água por gotejamento, que foi maior em G3 durante o armazenamento.

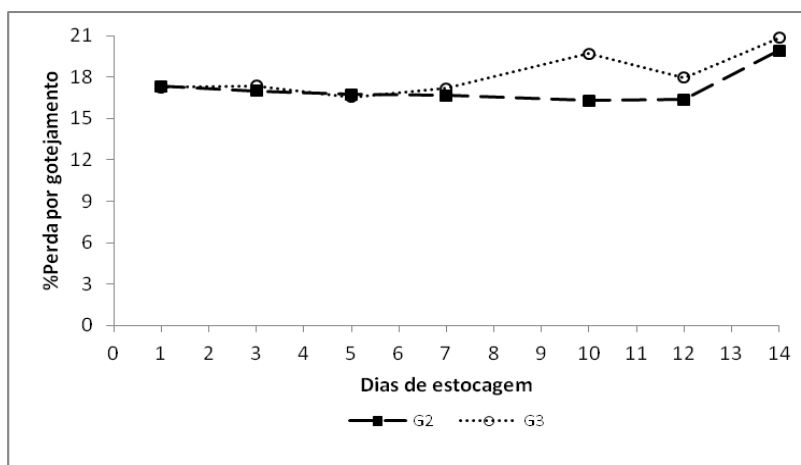


Figura 4.5. Perda por gotejamento (%) durante estocagem a 2°C dos produtos de filé de *M. ancylodon* embalados em atmosfera modificada (EAM).

Além da presença de exsudado ser um fator que influencia na escolha dos embalados em diferentes atmosferas, a cor também é uma característica determinante e está associada diretamente ao frescor, podendo indicar a rejeição do produto. A luminosidade (L*) do filé (Fig. 4.6B) da espécie *Macrodon ancylodon* apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) na comparação entre os produtos durante os 14 dias, devido ao escurecimento ressaltado na diminuição dos valores de L* dos filés em G2.

Os parâmetros **a*** e **b*** dos filés dos produtos exibiram tendências semelhantes durante o armazenamento. Os valores de **a*** foram inferiores ao valor inicial, ou seja, a degradação fez com que a cor se intensifique na tonalidade verde. Na pele dos filés (Fig. 4.6A) de G2 e G3 não houve variação significativa durante o armazenamento.

O parâmetro b^* nos filés de G3 mostrou aumento ao longo do tempo, tornando-os mais amarelados. Na pele, não foi observada variação significativa no armazenamento revelando conservação da tonalidade amarela característica da espécie *M. ancylodon*.

De forma geral, a avaliação da cor instrumental não se mostrou tão sensível quanto à avaliação sensorial realizada pelos julgadores que notaram as mudanças ocorridas ao longo da estocagem dos dois produtos.

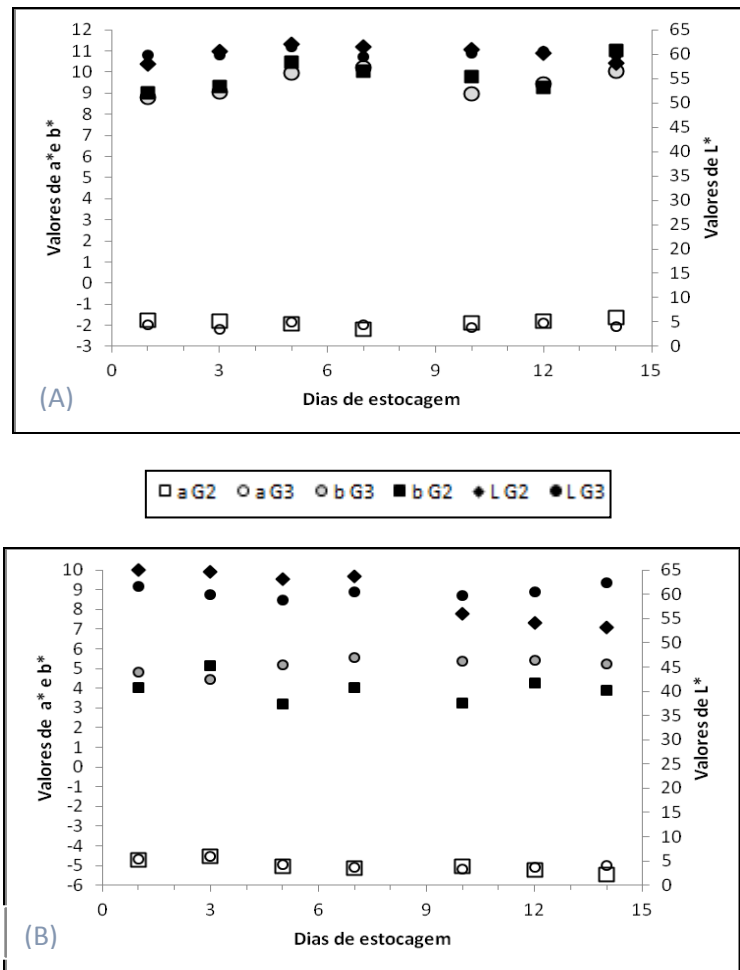


Figura 4.6. Parâmetros de cor L^* , a^* e b^* da pele (A) e lombo (B) dos filés de G2 e G3.

4. CONCLUSÃO

Durante a avaliação sensorial foi observado no produto G2 que as principais alterações dos parâmetros de qualidade notadas pelos julgadores nos filés de *Macrodon ancylodon* foram alteração na cor e odor e, para G3 foi maior exsudação e mudança no aspecto do muco. Os efeitos bacteriostáticos do CO₂ sobre o crescimento mais lento dos micro-organismos deteriorantes mostrou-se evidente até o 10º dia no produto G3 e em G2 até seis dias o produto estava próprio para o consumo. Enquanto que os filés embalados somente com ar (amostra controle) no 3º dia já ultrapassava o limite da contagem de bactérias determinado pela legislação. O aumento do pH nos produtos apresentou diferença significativa no 10º dia de estocagem, devido a presença de N-BVT em G2 e G3 acima do limite da legislação. Neste período também foi observado que os filés de G3 já apresentavam características de deterioração, devido o aumento da quantidade da amina putrescina. A avaliação da cor instrumental não se mostrou tão sensível quanto à avaliação sensorial realizada pelos julgadores. Dessa forma, conclui-se que os parâmetros avaliados estabeleceram o prolongamento da vida de prateleira para o produto G2 de até 6 dias e para G3 de 10 dias. Demonstrando que a embalagem em atmosfera modificada com a mistura gasosa de CO₂ e N₂ prolonga a vida de prateleira dos filés de *M. ancylodon*, devido à conservação das características de qualidade por um período maior de armazenamento.

REFERÊNCIAS

AOAC. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 17th ed. Gaithersburg, Maryland, USA: AOAC, 2000.

AGNESE, P. A.; OLIVEIRA, M. V.; SILVA, O. P. P.; OLIVEIRA, A.G. Contagem de Bactérias Heterotróficas Aeróbias Mesófilas e Enumeração de Coliformes Fecais e Totais, em Peixe Fresco Comercializado no Município de Seropédica RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 13, n. 88, p. 67 – 70, 2001.

BABIC, J.; MILIJASEVIC, M.; VRANIC, D.; VESKOVIC-MORACANIN, S.; DJINOVIC-STOJANOVIC, J. Effect of modified atmosphere packaging on the shelf-life of common carp (*Cyprinus carpio*) steaks. **Procedia Food Science**, v. 5, p. 2-5, 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Instrução normativa nº 20, de 21 de julho de 1999. Métodos analíticos físico-químicos para controle de produtos cárneos e seus ingredientes – sal e salmoura. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 10 de janeiro de 2001. Seção 1, p. 45.

BULUSHI, I. A.; POOLE, S.; DEETH, H. C.; DYKES, G. A. Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation - A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, n. 4: 369 – 377.

CYPRIAN, O.; LAUZON, H. L.; JOHANNSSON, R.; SVEINSDOTTIR, K.; ARASON, S.; MARTINSDOTTIR, E. Shelf life of air and modified atmosphere-packaged fresh tilapia (*Oreochromis niloticus*) fillets stored under chilled and superchilled conditions. **Food Science and Nutrition**, v. 1, n. 2, p. 130 – 140, 2013.

DEVLIEGHIERE, F.; DEBEVERE, J. Influence of dissolved carbon dioxide on the growth of spoilage bacteria. **LWT - Food Science and Technology**, v. 33, p. 531-537, 2000.

DOWNES, F.P; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological**. Examinations of Foods. 4th. ed. Washington (DC): APHA, 2001.

GOMEZ-GUILLEN, M. C.; MONTERO, P.; HURTADO, O.; BORDERIAS, A. J. Biological characteristics affect the quality of farmed Atlantic salmon and smoked muscle. **Journal of Food Science**, v. 65, n. 1, p. 53–60, 2000.

GONÇALVES, A. A. **Tecnologia do Pescado: Ciência, Tecnologia, Inovação e Legislação**. Ed. Atheneu Rio, Rio de Janeiro, 2011.

GONÇALVES, A. A.; LIMA, J. T. A. X.; PAULA, F. E. R. Development of Quality Index Method (QIM) scheme for spiny lobster (*Panulirus argus*, Latreille, 1804) stored in ice. **Food Control**, v. 47, p. 237-245, 2015.

GRAHAM, A. F.; MASON, D. R.; MAXWELL, F. J.; PECK, M.W. Effect of pH and NaCl on growth from spores of non-proteolytic *Clostridium botulinum* at chill temperature. **Letters Applied Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 95-100, 1997.

GRAM, L.; HUSS, H.H. Microbiological spoilage of fish and fish products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 33, p. 121-137, 1996.

HUSS, H. H. Quality and quality changes in fresh fish. **FAO** (Food and Agriculture Organization of the United Nations) **Fisheries Technical Paper**, Rome, 195 p., 1995.

KRIZEK, M.; PAVLICEK, T.; VACHA, F. Formation of selected biogenic amines in carp meat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1083–1093, 2002.

LÁZARO DE LA TORRE, C. A.; CONTE-JUNIOR, F. L.; CUNHA, E. T.; MARSICO, S. B.; MANO, R. M.; FRANCO, C. A. Validation of an HPLC methodology for the identification and quantification of biogenic amines in chicken meat. **Food Analytical Methods**, v. 6, p. 1024–1032, 2013.

LEMPEK, T. S.; PRENTICE, C.; LOPES, M. L. Efeito do vácuo na qualidade da pescada-foguete (*Macrodon ancylodon*). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 1, p. 64–67, 2001.

MARTINS, C. N. **Parâmetros de qualidade e valoração de pescada da espécie *Macrodon ancylodon* (Bloch & Schneider, 1801): características sensoriais, físico-químicas, microbiológicas, parasitológicas e contaminantes inorgânicos**. 2011. Dissertação (Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses). Universidade de São Paulo, 2011.

MILNE, D.; POWELL, S. M. Limited microbial growth in Atlantic salmon packed in a modified atmosphere. **Food Control**, v. 42, p. 29-33, 2014.

PARLAPANI, F. F.; HAROUTOUNIAN, S. A.; NYCHAS, G. E.; BOZIARIS, I. S. Microbiological spoilage and volatiles production of gutted European sea bass stored under air and commercial modified atmosphere package at 2 °C. **Food Microbiology**, v. 50, p. 44-53, 2015.

SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I.; CARMONA, P.; MORENO, P.; BORDERÍAS, J.; SÁNCHEZ-ALONSO, I.; RODRÍGUEZ-CASADO, A.; CARECHE, M. Protein and water structural changes in fish surimi during gelation as revealed by isotopic H/D exchange and Raman spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 106, p. 56-64, 2008.

SANTOS, J. S.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Review: Fresh, minimally processed foods packaged under modified atmosphere. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 15, n. 1, p. 1-14, 2012.

SIVERTSVIK, M.; JEKSRUD, W.K.; ROSNES, J.T. A review of modified atmosphere packaging of fish and fishery products – significance of microbial growth, activities and safety. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, p. 107-127, 2002.

SVEINSDOTTIR, K.; HYLDIG, G.; MARTINSDÓTTIR, E. Quality Index Method (QIM) scheme developed for farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). **Food Quality and Preference**, v. 14, p. 237-245, 2003.

STAMATIS, N.; ARKOUDELOS, J. Quality assessment of *Scomber colias japonicas* under modified atmosphere and vacuum packaging. **Food Control**, v. 18, p. 292-300, 2007.

YASSORALIPOUR, A.; BAKAR, J.; RAHMAN, R. A.; BAKAR, F. A. Biogenic amines formation in barramundi (*Lates calcarifer*) fillets at 8°C kept in modified atmosphere packaging with varied CO₂ concentration. **LWT - Food Science and Technology**, v. 48, p. 142-146, 2012.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos nesta pesquisa conclui-se que:

- O protocolo desenvolvido pelo Método de Índice de Qualidade (MIQ) para a pescada gó (*Macrodon ancylodon*) inteira mostrou alta correlação linear entre o IQ e o tempo de estocagem em gelo.
- Baseado nos resultados da análise sensorial, microbiológica e físico-química, conclui-se que a pescada gó inteira estocada em gelo mantém boa qualidade e frescor durante 11 dias.
- Dentre os marcadores químicos para a pescada gó inteira as substâncias orgânicas voláteis encontradas foram determinadas tóxicas e provenientes do ambiente marinho e da dieta dessa espécie.
- O perfil químico dos ácidos graxos durante a estocagem mostraram perda da qualidade nutricional em relação a diminuição dos ácidos araquidônicos e oleico.
- Cinco espécies identificadas na microflora intestinal, que podem causar deterioração e/ou desempenhar papel de patógenos oportunistas, são: *Staphylococcus cohnii* subsp. *urealyticum*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas fluorescens* e *Corynebacterium* sp.
- As amostras de peixe apresentaram qualidade microbiológica aceitável e quando mantida em temperaturas baixas (< 3°C) pode prolongar a sua vida de prateleira por limitar a ação da microflora.

- A avaliação sensorial pela aplicação do protocolo MIQ para os filés de *Macrodon ancylodon* em EAM a 2°C mostrou que no produto com 60%CO₂/40%N₂ (G2) as principais alterações dos parâmetros de qualidade foram a cor e odor e para a atmosfera com 70%CO₂/30%N₂ (G3) a elevada exsudação e aspecto do muco, as mais evidentes.
- A dissolução do CO₂ na fase aquosa do músculo dos filés está diretamente relacionado ao teor desse gás na EAM e no efeito bacteriostático, observado sobre o crescimento dos micro-organismos deteriorantes, aumento do pH e o acúmulo de N-BVT.
- Foram observadas diferenças na estabilidade comercial entre os produtos de filés de pescada-gó (*M. ancylodon*) embalados em atmosfera modificada (G2 e G3) determinando prazo de 6 dias e de até 10 dias, respectivamente.
- A putrescina e a cadaverina foram as aminas que apresentaram teores mais elevados na pescada-gó inteira e nos filés em EAM.
- Os métodos instrumentais (cor e textura) não se mostraram tão sensíveis quanto a avaliação sensorial realizada pelos julgadores.
- Pode-se afirmar que os métodos que mais se correlacionaram e indicaram a perda de frescor foi a análise microbiológica e a avaliação sensorial pelo MIQ tanto para pescada gó inteira conservada em gelo quanto para os filés embalados em atmosferas modificadas.